

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI - UFVJM
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS - PMPGCF

NAYARA RAYANE CÉSAR

**EFEITOS DA SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DA BANHA DE PORCO POR
ÓLEO DE PEQUI (*Caryocar brasiliense*) EM UMA DIETA OCIDENTAL
SOBRE O METABOLISMO, A FUNÇÃO CARDÍACA E O ESTADO
REDOX CELULAR DE RATOS**

DIAMANTINA – MG
2015

NAYARA RAYANE CÉSAR

**EFEITOS DA SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DA BANHA DE PORCO POR
ÓLEO DE PEQUI (*Caryocar brasiliense*) EM UMA DIETA OCIDENTAL
SOBRE O METABOLISMO, A FUNÇÃO CARDÍACA E O ESTADO
REDOX CELULAR DE RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Sociedade Brasileira de Fisiologia, área de concentração em Metabolismo Energético e Controle da Ingestão Alimentar, nível mestrado, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Elizabethe Adriana Esteves – UFVJM
Coorientador: Prof. Dr. Marco Fabrício Dias Peixoto - UFVJM

**DIAMANTINA – MG
2015**

Ficha Catalográfica - Sistema de Bibliotecas/UFVJM
Bibliotecária: Jullyele Hubner Costa CRB-6/2972

C421e César, Nayara Rayane.
2015 Efeitos da substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em uma dieta ocidental sobre o metabolismo, a função cardíaca e o estado redox celular de ratos / Nayara Rayane César. – Diamantina : UFVJM, 2015.
81 p. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Elizabethe Adriana Esteves
Coorientador: Prof. Dr. Marco Fabrício Dias Peixoto

Dissertação (mestrado) –Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde. Mestrado - Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, 2015.

1. Óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*). 2. Doenças cardiometabólicas. 3. Ácidos graxos monoinsaturados. 4. Carotenoides. I. Esteves, Elizabethe Adriana. II. Peixoto, Marco Fabrício Dias. III. Título.

CDD 613.284

Elaborada com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**FEITOS DA SUBSTITUIÇÃO PARCIAL DA BANHA DE PORCO POR
ÓLEO DE PEQUI (*CARYOCAR BRASILIENSE*) EM UMA DIETA
OCIDENTAL SOBRE O METABOLISMO, A FUNÇÃO CARDÍACA E O
ESTADO REDOX CELULAR DE RATOS**

NAYARA RAYANE CÉSAR

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas,
nível de Mestrado, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Mestre.

APROVADO EM 31/03/2015

Prof. Dr. Leandro de Moraes Cardoso (UFJF)

Prof. Dr. Flávio de Castro Magalhães (UFVJM)

Prof.^a Dr.^a Elizabethe Adriana Esteves (UFVJM)
Presidente

DIAMANTINA
2015

*“Sei que o meu trabalho é uma gota no oceano,
mas sem ele, o oceano seria menor.”*

Madre Teresa de Calcutá

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, por terem acolhido em suas vidas o desejo de Deus para que eu existisse, por todo amor e dedicação, e por não terem medido esforços para que eu tivesse oportunidades.

À minha orientadora, professora Elizabethe Adriana Esteves, por todos os ensinamentos, pelo tempo dedicado, pela paciência, pelas portas abertas e principalmente por acreditar em mim.

Ao meu coorientador, professor Marco Fabrício Dias Peixoto, por todo auxílio e incentivo.

Agradeço à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), pela minha graduação em Nutrição e pelo título de mestre em Ciências Fisiológicas. A todos os professores do Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. À FAPEMIG, CNPq e CAPES pelo auxílio financeiro.

Aos professores: Etel Vieira, Flávio Magalhães, João Luiz de Miranda, Nísia Villela, Reynaldo Santana e Márcio Leles, pela disponibilização de laboratórios e pelo auxílio.

Aos companheiros, Lauane, Dirceu, Liliane, e especialmente a Lidiane, por terem feito parte desse “bonde” da minha história. Obrigada pela dedicação a esse trabalho e principalmente pelo carinho da amizade.

Às alunas de iniciação científica: Nilma Nayara, Fabiulla, Aline Martins, por auxiliarem na condução do ensaio biológico. À Brenda, minha companheira de república e IC padrão ouro, pelo tempo de convivência, pelas orações e pelo esforço desmedido. À Karine, pela dedicação nas análises do estresse oxidativo e pela amizade. Ao meu irmão Samuel, pelo auxílio no processamento dos tecidos e por tanta vida compartilhada.

À Talita e a Rosa, que juntamente com a Liliane, foram verdadeiros “destaques” nessa caminhada. Obrigada pelo companheirismo e pelas boas conversas e gargalhadas.

Ao meu amado, Celso, pela presença em todos os momentos, pela compreensão, e por me ajudar a ser eu mesma.

Agradeço à minha querida Diamantina, por ter me proporcionado os melhores anos da minha vida.

Ao Senhor Jesus, que, conhecendo meu espírito questionador, escolheu revelar-se a mim num grupo de oração universitário, para que eu experimentasse e testemunhasse que a fé e a razão não são opostas, ao contrário, “constituem como que as duas asas pelas quais o espírito humano se eleva à contemplação da verdade” (São João Paulo II). Agradeço com carinho, a todos os irmãos do Ministério Universidades Renovadas (MUR), por não permitirem que eu me perdesse pelo caminho e me esquecesse que *eu tenho um Sonho!*

RESUMO

O padrão dietético ocidental, caracterizado pelo alto consumo de gordura saturada e carboidratos refinados, favorece o acúmulo de tecido adiposo e o surgimento de várias doenças cardiometabólicas (DCM). Atualmente, tem-se considerado que não apenas a quantidade, mas o perfil das gorduras ingeridas pode exercer forte influência sobre o desenvolvimento dessas doenças. Nesse contexto, vários estudos têm demonstrado que o consumo de alimentos fontes de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) está associado a um menor risco para o desenvolvimento de DCM. Além disso, têm sido também identificados muitos compostos bioativos presentes nos alimentos vegetais, os quais têm sido associados a efeitos benéficos na redução do risco e, ou, no tratamento de DCM. Dentre esses compostos estão os carotenoides, que apresentam atividade antioxidante. Nessa perspectiva, o óleo do pequi apresenta-se como um potencial alimento funcional, dado que os MUFA representam aproximadamente 60% dos seus ácidos graxos, e possui ainda um teor elevado de carotenoides totais. Considerando que o padrão de consumo alimentar ocidental favorece o desenvolvimento das DCM, e que o óleo do pequi é um potencial alimento protetor, mas ainda não foi explorado nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da substituição parcial da banha de porco (rica em ácidos graxos saturados - SFA) por óleo de *Caryocar brasiliense* – pequi (rico em MUFA e carotenoides) em uma dieta de padrão ocidental, sobre o metabolismo, a função cardíaca e o estado redox celular de ratos. Após uma semana de adaptação, os animais recém-desmamados foram distribuídos em três grupos (n=12) e tratados durante 12 semanas. Os grupos foram identificados conforme a dieta que receberam: CTRL – controle, dieta AIN93G; HFS – dieta alta em gordura e sacarose; HFS-OP – dieta alta em gordura e sacarose, com substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi (27%). O peso corporal e a ingestão alimentar foram monitorados durante todo o período experimental; a pressão arterial sistólica (PAS) e a frequência cardíaca (FC) foram aferidas na 3ª e 10ª semanas; as fezes das últimas 72 horas foram coletadas para avaliação das concentrações de colesterol e triglicerídeos (TG) e, ao final do experimento, os animais foram eutanasiados por decapitação. As cavidades abdominais e torácicas foram abertas para coleta de amostras: (A) corações: foram retirados imediatamente para avaliação da função cardíaca *ex vivo*; posteriormente foram avaliados os níveis de peroxidação lipídica e capacidade antioxidante total; (B): tecido adiposo das regiões epididimal e retroperitoneal, que foi pesado e posteriormente utilizado para avaliações da adiposidade e histológicas; (C) soro: para determinação das concentrações de glicose, colesterol e TG; (D) plasma: para determinação

das concentrações de insulina, leptina e adiponectina, peroxidação lipídica e capacidade antioxidante total; (E) fígados: para avaliação das concentrações de colesterol e TG, análises histopatológicas e peroxidação lipídica, capacidade antioxidante total e atividade enzimática (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase). Observou-se que os pesos corporais dos animais HFS-OP e HFS foram mais elevados que CTRL ($p<0,05$), no entanto, a deposição de gordura na região visceral em resposta ao consumo das dietas ocidentais foi atenuada pela substituição da banha de porco por óleo de pequi ($p<0,05$). A menor sobrecarga reduziu a deposição de TG no tecido hepático o que pode estar associado ao retardo do desenvolvimento do diabetes. De um modo geral, a função cardíaca foi prejudicada pelas dietas ocidentais em comparação ao CTRL. Nas avaliações *in vivo* não foram observados efeitos diferenciais da substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi, contudo, quando a função cardíaca foi avaliada *ex vivo*, a ingestão do óleo atenuou os danos à função cardíaca ($p<0,05$), sugerindo que, ainda que modestamente, o óleo do pequi exerceu um efeito protetor sobre as estruturas cardíacas intrínsecas. Além disso, foi observada uma atenuação da peroxidação lipídica no tecido hepático para HFS-OP em relação à HFS ($p<0,05$), sugerindo que o óleo do pequi pode ter favorecido a incorporação dos MUFA e de carotenoides nas membranas dos cardiomiócitos, o que exerceu um efeito protetor. Devido ao papel primário do fígado no controle metabólico de todo o organismo, esse efeito de proteção contra a peroxidação lipídica não pôde ser observado nos hepatócitos. Contudo, a presença dos carotenoides na dieta HFS-OP fortaleceu o sistema antioxidante exógeno, evitando que a atividade das enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase fosse prejudicada em HFS-OP como observado para HFS ($p<0,05$). Essas adaptações sugerem que a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi foi capaz de atenuar alguns efeitos deletérios da dieta ocidental sobre o metabolismo lipídico, a função cardíaca e o estado redox celular de ratos.

Palavras-chave: óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*); doenças cardiometabólicas (DCM); ácidos graxos monoinsaturados (MUFA); carotenoides; metabolismo; função cardíaca; estado redox celular.

ABSTRACT

The Western diet pattern, which means a high saturated fat and refined carbohydrates intake, leads to body fat accumulation and several cardiometabolic diseases (CMD). Currently, it has been considered that, not only the amount, but the fat quality, can exert a strong influence in the development of those diseases. In this context, several studies have shown that consuming foods high in monounsaturated fatty acids (MUFA) is associated with lower risk for CMD. Moreover, it has also been identified many bioactive compounds in plant foods which are associated with beneficial effects in reducing the risk, or treating DCM. Among these compounds are carotenoids, which have strong antioxidant activity. In this perspective, pequi oil is a potential functional food, since MUFA represent approximately 60% of its fatty acids content, and it is also high in several antioxidant carotenoids. So, considering that western diet pattern promotes CMD development, and pequi oil is a potential functional food, but it has not been explored in this context, the aim of this study was to evaluate the effects of a partial replacement of lard (high in SFA) by pequi oil (high in MUFA and carotenoids), into a Western diet model, on metabolism, cardiac function and cellular redox status of rats. The animals were divided into three groups ($n = 12$) and treated during 12 weeks: CTRL - control, AIN93G diet; HFS – high in saturated fat and sucrose; HFS-OP - high in saturated fat and sucrose, with partial replacement of lard by pequi oil (27%). Body weight and food intake were monitored throughout the experimental period; systolic blood pressure (SBP) and heart rate (HR) were measured at the 3rd and 10th weeks; faeces from the last 72 hours were collected for evaluation of cholesterol and triglycerides (TG). At the end of the experiment, all animals were killed by decapitation, the abdominal and thoracic cavities were opened for collection of samples: (A) hearts were taken immediately to evaluate the *ex vivo* cardiac function; levels of lipid peroxidation and total antioxidant capacity; (B): epididymal and retroperitoneal adipose tissues were harvested, weighed and subsequently used for adiposity and histological evaluations; (C) serum: for glucose, cholesterol and TG determination; (D) plasma: for insulin, leptin and adiponectin determinations, lipid peroxidation, total antioxidant capacity; (E) livers: for cholesterol and TG levels, histopathological analyzes, lipid peroxidation, total antioxidant capacity and enzyme activities. Body weights from HFS-OP and HFS animals were equally higher than CTRL ($p < 0.05$); however, visceral fat deposition in response to consumption of the Western diet was attenuated by replacing lard by pequi oil and it also led to less TG deposition in the liver

($p < 0.05$). In general, cardiac function was impaired by Western diet, promoting a higher blood pressure and heart rate *in vivo* and a lower cardiac contractility and relaxation efficiency *ex vivo* ($p < 0.05$). However, although there were no differential effects from the partial replacement of lard by pequi oil on blood pressure and heart rate *in vivo*, this replacement attenuated the damage to cardiac function compared to HFS ($p < 0.05$), suggesting that, even though modestly, pequi oil exerted a protective effect on intrinsic cardiac structures. In addition, the partial replacement of lard by pequi oil reduced lipid peroxidation in cardiomyocytes ($p < 0.05$) compared to HFS, which was not observed in hepatocytes. Moreover, in the hepatocytes, there were an increasing in total antioxidant capacity and catalase and glutathione peroxidase activities compared to HFS ($p < 0.05$). These adaptations suggest that the partial replacement of lard by pequi oil mitigated some deleterious effects of the Western diet on lipid metabolism, cardiac function and cellular redox status of rats.

Keywords: *Caryocar brasiliense*; pequi oil; cardiometabolic disease; monounsaturated fatty acids; carotenoids; metabolism; cardiac function; redox status.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema representativo da atuação dos sistemas antioxidantes na defesa contra espécies reativas de oxigênio.	27
Figura 2	Esquema ilustrativo do protocolo experimental de 12 semanas.	35
Figura 3	Peso corporal inicial, peso corporal final, ingestão alimentar total e ingestão energética total dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento.	43
Figura 4	Índice de Lee e índice de adiposidade dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento.	44
Figura 5	Tamanho dos adipócitos (μm^2) do tecido adiposo retroperitoneal após 12 semanas de tratamento.	45
Figura 6	Concentrações séricas de colesterol total, HDL-colesterol e triglicerídeos dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento.	46
Figura 7	Concentrações de colesterol e triglicerídeos, hepáticos e fecais, dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento.	48
Figura 8	Infiltração gordurosa no tecido hepático dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento - características morfológicas.	50
Figura 9	Glicose sérica, insulina plasmática e Índice HOMA-IR dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento.	51
Figura 10	Concentrações plasmáticas de leptina e adiponectina e razão leptina/adiponectina dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento.	53
Figura 11	Pressão arterial sistólica - mmHg e frequência cardíaca inicial - 3ª semana de tratamento e PAS e FC final - 10ª semana de tratamento dos animais experimentais.	56
Figura 12	Função cardíaca basal pela técnica do coração isolado em sistema Langendorff - Índice de contratilidade $+dP/dt$, índice de relaxamento $-dP/dt$ cardíaco e frequência cardíaca <i>ex vivo</i> dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento.	58
Figura 13	Níveis de peroxidação lipídica (concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS) no tecido hepático, cardíaco e no plasma dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento.	61
Figura 14	Capacidade antioxidante total (poder de redução do ferro - FRAP) no tecido hepático, cardíaco e no plasma dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento	64
Figura 15	Atividade das enzimas superóxido dismutase - SOD, catalase - CAT e glutational peroxidase - GPx no tecido hepático dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento.	67
Figura 16	Principais resultados obtidos, de acordo com os objetivos específicos: (1) metabolismo; (2) função cardíaca; (3) estado redox celular de ratos.	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição das dietas experimentais.	34
Tabela 2	Número médio de quadrantes e classificação do grau de infiltração gordurosa em hepatócitos de ratos após 12 semanas de tratamento.	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

+dP/dt	Máxima derivada de pressão sobre a derivada tempo
-dP/dt	Mínima derivada de pressão sobre a derivada tempo
AGL	Ácidos graxos livres
CAT	Catalase
CTRL	Controle
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais Experimentais
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DCM	Doenças Cardiometabólicas
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DM2	Diabetes <i>Mellitus</i> do tipo II
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
FC	Frequência Cardíaca
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
GP	Ganho de Peso
GPx	Glutathione Peroxidase
GR	Glutathione Redutase
HDL	High-Density Lipoprotein
HE	Hematoxilina-eosina
HFS	High fat sucrose (alta em gordura e açúcar)
HFS-OP	High fat sucrose (alta em gordura e açúcar) – óleo de pequi

HOMA-IR	Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance
IA	Ingestão Alimentar
IAd	Índice de Adiposidade
IL	Índice de Lee
LDL	Low-Density Lipoprotein
MDA	Malondialdeído
MUFA	Ácido Graxo Monoinsaturado
OP	Óleo de pequi
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PBS	Phosphate-Buffered Saline
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
PUFA	Ácido Graxo Polinsaturado
RPM	Rotações Por Minuto
SFA	Ácido Graxo Saturado
SOD	Superóxido Dismutase
TBARS	Thiobarbituric Acid Reactive Substances
TG	Triglicérideos
UFVJM	Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico
VLDL	Very Low-Density Lipoprotein
ω -9	Ômega-9

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1. Doenças Cardiometabólicas.....	19
2.1.1. Patogênese das Doenças Cardiometabólicas.....	20
2.2. Padrões Dietéticos e Doenças Cardiometabólicas.....	23
2.3. Alimentos/constituintes funcionais e Doenças Cardiometabólicas.....	24
2.4. Óleo de pequi (<i>Caryocar brasiliense</i>): composição química e potencial funcional	29
3. OBJETIVOS.....	32
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1. Obtenção do óleo de pequi.....	33
4.2. Ensaio Biológico.....	33
4.2.1. Animais e condições experimentais.....	33
4.2.2. Grupos experimentais.....	33
4.2.3. Dietas.....	33
4.3. Desenho experimental.....	35
4.4. Procedimentos de análises.....	36
4.4.1. Variáveis de controle experimental.....	36
4.4.2. Variáveis relacionadas ao metabolismo.....	36
4.4.3. Variáveis relacionadas à função cardíaca.....	39
4.4.4. Estado Redox Celular.....	40
4.5. Análises Estatísticas.....	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1. Variáveis de controle experimental.....	43
5.2. Variáveis relacionadas ao metabolismo.....	44
5.3. Variáveis relacionadas à função cardíaca.....	55
5.4. Estado Redox Celular.....	60
6. RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS E CONCLUSÃO.....	69
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O alto consumo de gordura saturada e carboidratos refinados, associados ao baixo consumo de frutas, hortaliças e alimentos integrais são característicos do padrão dietético ocidental (VILELA, et al. 2014). A epidemia mundial das desordens cardiometabólicas está associada a esse padrão, tendo o sedentarismo como um fator agravante (BHUPATHIRAJU & TUCKER, 2011; SUN, et al., 2014). Esse estilo de vida favorece o acúmulo de tecido adiposo e o surgimento de várias doenças crônicas, como o diabetes *mellitus* do tipo II, hipertensão, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, infarto, artrite, asma e certos tipos de câncer (GREENBERG & OBIN, 2006).

Embora haja vários estudos populacionais que sugerem que as dietas ricas em lipídeos contribuam para o acúmulo do tecido adiposo e para desordens associadas, ainda não existe um consenso no que se refere à ingestão de lipídeos específicos (WILLET, 2002). Nas últimas décadas, tem sido considerada a hipótese de que a composição dos lipídeos dietéticos pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento de doenças cardiometabólicas.

Segundo a revisão feita por Gillingham et al. (2011), a ingestão total de lipídeos das dietas ocidentais e mediterrânea é semelhante; no entanto, o tipo de gordura dietética, especificamente o conteúdo em ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), difere consideravelmente. Na dieta ocidental, a ingestão de MUFA representa 13-14% da energia, a ingestão de ácidos graxos saturados (SFA) representa 11-12%, e a ingestão de ácidos graxos polinsaturados (PUFA) é igual ou inferior a 7% de energia. Por outro lado, a maior parte da ingestão total de lipídeos da dieta mediterrânea é representada por MUFA, variando de 16-29% da energia. O elevado consumo de MUFA da dieta mediterrânea ocorre em detrimento de SFA, que representa menos que 8% da energia. Vários estudos demonstram a relação inversa entre a dieta mediterrânea, bem como o consumo de azeite de oliva, seu alimento mais representativo, e a prevalência das doenças cardiometabólicas (FUNG, et al., 2009; SOFI, et al., 2010; KASTORINI, et al., 2011).

Além do número crescente de investigações sobre a influência do perfil dos ácidos graxos da dieta sobre a saúde, têm sido identificados muitos compostos bioativos presentes na dieta, os quais têm sido associados a efeitos benéficos na redução do risco e, ou, no tratamento de doenças cardiometabólicas. Dentre esses compostos estão os carotenoides, que apresentam atividade antioxidante, além dos efeitos biológicos já conhecidos, como o de

atividade pró-vitamina A, que é essencial para a promoção do crescimento, desenvolvimento embrionário e função visual (TAPIERO et al., 2004).

É neste contexto que se insere o óleo do *Caryocar brasiliense* (pequi). O pequi é um fruto exótico, típico do cerrado brasileiro, sendo bastante apreciado nas regiões onde ocorre. Sua polpa contém uma boa quantidade de óleo comestível, que representa cerca de 70% da matéria seca (ROESLER et al., 2007). Os MUFA predominam neste óleo (aproximadamente 61%), sendo o ácido oleico em maior concentração (48 a 55%) (TEIXEIRA et al., 2013). Este óleo também apresenta teor elevado de carotenoides totais, aproximadamente 42 mg.100⁻¹ (RIBEIRO et al., 2012). Essas características tornam o óleo do pequi um potencial alimento funcional, o que incita investigações.

São encontradas na literatura científica algumas pesquisas sobre os efeitos biológicos do óleo de pequi. Miranda-Vilela et al. (2008, 2009a, 2009b, 2010) demonstraram alguns efeitos protetores do óleo tanto *in vitro* quanto *in vivo*, tais como contra formação de radicais livres oxidativos e redução da peroxidação lipídica, além de efeitos anti-inflamatórios e redução no colesterol e na pressão arterial sistólica e diastólica. Em um estudo preliminar, nosso grupo demonstrou atividade antioxidante *in vitro* do extrato metanólico de polpa de pequi, com destaque para atividade antioxidante por captura de radicais livres (DPPH e ABTS) e poder de redução do ferro (FRAP) (MORAIS et al., 2013). Em um ensaio biológico, observamos que o consumo de uma dieta habitual suplementada com óleo de pequi associada ao exercício físico aeróbico regular melhorou a capacidade de contração e relaxamento cardíacos, favorecendo a função desse órgão em ratos (OLIVEIRA, 2014).

Considerando o efeito deletério da dieta ocidental e sua correlação com as doenças cardiometabólicas, bem como o potencial efeito funcional do óleo do pequi, a hipótese testada nesse estudo foi a de que a substituição parcial da banha de porco (rica em SFA) por óleo de pequi (rico em MUFA) em ratos alimentados com dieta ocidental, desde estágios iniciais da vida até o início da vida adulta, seria capaz de exercer um efeito protetor sobre as alterações metabólicas, cardíacas e antioxidantes esperadas em decorrência do consumo da dieta ocidental, rica em sacarose e SFA.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Doenças Cardiometabólicas

Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2008), as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), principalmente doenças cardiovasculares, cânceres, doenças respiratórias crônicas e diabetes *mellitus* do tipo II (DM2) representam a principal ameaça para a saúde humana e para o desenvolvimento social e econômico. As DCNT são caracterizadas por apresentar, de maneira geral, um longo período de latência, tempo de evolução prolongado, lesões irreversíveis e complicações que acarretam graus variáveis de incapacidade (MARIATH et al., 2007). Essas doenças são as maiores causas de morte, vitimando cerca de 35 milhões de pessoas por ano, o que representa 60% das mortes a nível mundial, sendo a maior concentração nos países de baixa e média renda (WHO, 2008).

Dentre as DCNT, merecem grande atenção as doenças cardiometabólicas, por serem as principais causas de morbidade e mortalidade (LOTTENBERG, 2009). Alguns fatores são considerados como de risco para o desenvolvimento dessas doenças, como a dislipidemia aterogênica; elevação da pressão arterial; hiperglicemia associada à resistência a insulina; estado pró-trombótico e estado pró-inflamatório. Esses fatores são preditores de doenças cardiovasculares e DM2 (GRUNDY, 2004).

Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2014), em 2010, o DM2 atingia 6,4% da população adulta mundial (20 a 79 anos), para 2030 a estimativa é de que essa enfermidade atingirá 7,7% da população. No Brasil, dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) mostram que, em pessoas com mais de 18 anos de idade residentes em capitais brasileiras, a prevalência de quem relata ter DM2 aumentou de 5,3% para 6,3% entre 2006 e 2010. A presença do DM2 é um fator de risco independente para doença arterial coronariana, acidente vascular encefálico, doença arterial periférica e insuficiência cardíaca, que são as principais causas de morte nesses pacientes.

Além disso, é muito frequente a associação de fatores de risco cardiometabólico em um único indivíduo, como o acúmulo de gordura abdominal, hipertensão, baixas concentrações séricas de HDL-colesterol e hiperglicemia (SCHEFFEL et al., 2004). O estilo de vida que favorece o surgimento dessas doenças, de maneira geral, é composto por uma dieta inadequada e baixos níveis de atividade física (WHO, 2008). Tal estilo de vida é a

principal causa da obesidade, fator que predispõe para o desenvolvimento das doenças cardiometabólicas ou está associado a elas (POIRIER et al., 2006).

Entre os brasileiros, têm sido observado os impactos desse estilo de vida inadequado. A Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2002-2003 mostrou que 40,6% da população adulta estava com peso acima do recomendado. Na POF 2008-2009, o excesso de peso em homens adultos saltou para 50,1% e entre as mulheres foi para 48% (TEIXEIRA & DIAZ, 2011).

O excesso de peso e suas comorbidades exercem influência direta sobre a capacidade de trabalho do indivíduo, principalmente nas tarefas que exigem maior esforço físico. A hipertensão, por exemplo, é responsável por 40% dos casos de aposentadoria precoce e de absenteísmo no trabalho. Além disso, há relatos de insatisfação com a aparência, problemas nas relações sociais e dificuldades na realização das atividades diversas (SIMON et al., 2014). Dessa forma vê-se que, sob vários aspectos, as doenças cardiometabólicas impactam de forma negativa a qualidade e a expectativa de vida de uma população.

2.1.1. Patogênese das Doenças Cardiometabólicas

Por tratar-se de distúrbios de ordem sistêmica, em que as alterações que ocorrem em um órgão ou tecido podem comprometer a função de vários outros, apontar as causas das doenças cardiometabólicas (DCM) constitui um desafio. Várias hipóteses têm sido levantadas, tendo por base o balanço energético positivo, situação na qual a ingestão de energia excede o gasto. O excesso de nutrientes pode provocar respostas em diversos tipos de células, como nos adipócitos, nos hepatócitos, nos miócitos, nas células vasculares e do sistema imune, podendo gerar disfunções metabólicas (WISSE et al., 2007).

Haja vista a estreita relação entre as DCM e o acúmulo de tecido adiposo, cabe ressaltar algumas características deste tecido. Os adipócitos maduros agem como um órgão endócrino e parácrino, através de uma rede de comunicação com outros tecidos e o sistema nervoso, influenciando o apetite, o balanço energético, a imunidade, a sensibilidade à insulina, a angiogênese, a pressão arterial, o metabolismo lipídico e glicídico e a homeostase (IBRAHIM, 2010).

As substâncias produzidas pelo tecido adiposo são conhecidas como adipocinas, dentre as quais destacam-se a leptina e a adiponectina. A leptina age diretamente sobre hipotálamo e está envolvida no balanço energético. As concentrações plasmáticas de leptina

aumentam em proporção ao acúmulo de tecido adiposo, e sua secreção promove a redução do apetite e aumenta o gasto de energia (SATO et al., 2004). Além disso, a leptina interfere na angiogênese, na hematopoiese, na imunidade, na indução da proliferação e migração de células vasculares, na agregação plaquetária e trombose arterial (IBRAHIM, 2010).

O acúmulo de tecido adiposo leva à hiperleptinemia e à resistência a leptina, de modo que as concentrações elevadas de leptina já não desempenham seu papel na homeostase energética. Nesse contexto, a leptina tem sido considerada como um marcador sensível para prever o risco de DCM (KNIGHT et al., 2010).

Por outro lado, a adiponectina está envolvida no aumento da sensibilidade à insulina, por promover a elevação da oxidação tecidual de ácidos graxos e redução da produção de glicose hepática. A adiponectina tem ainda ação anti-aterogênica e anti-inflamatória, por inibir a expressão e proliferação de moléculas de adesão celular e suprimir a infiltração de macrófagos no tecido adiposo e ainda induzir a produção de fatores anti-inflamatórios (IBRAHIM, 2010).

Ao contrário da leptina, as concentrações plasmáticas de adiponectina estão diminuídas em indivíduos obesos, sugerindo que a hipoadiponectinemia está envolvida na fisiopatologia da obesidade. A hipoadiponectinemia está também associada ao DM2 e as dislipidemias (LI et al., 2010). Devido às características dessas adipocinas, a razão leptina/adiponectina tem sido considerada como um marcador de risco cardiometabólico (MIRZA et al., 2011).

Além das alterações na secreção e efeitos sistêmicos das adipocinas frente ao acúmulo do tecido adiposo, outro fator que tem sido considerado como um dos componentes básicos das DCM é o excesso de ácidos graxos livres circulantes. A elevação da concentração de ácidos graxos livres (AGL) que chegam à veia porta, provenientes do tecido adiposo visceral (também referido como central ou abdominal), promove um aumento na quantidade de AGL entregues diretamente para o fígado, o que eleva a produção de glicose, podendo assim desencadear a hiperglicemia seguida de resistência à insulina, e o desenvolvimento de DM2. Esse aumento de AGL é também observado em associação com a elevação das concentrações de triglicerídeos (TG) e diminuição no HDL-colesterol, característico das dislipidemias (ARNER, 2002).

Há ainda evidências de que o tecido adiposo visceral é mais lipotóxico quando comparado ao tecido adiposo subcutâneo na presença de catecolaminas, além de ser mais resistente à ação anti-lipolítica da insulina. Ademais, a gordura visceral apresenta uma maior

expressão gênica de adipocinas pró-inflamatórias em relação à gordura subcutânea (KIM, 2013).

Um outro fator envolvido na patogênese das DCM é o estresse oxidativo. As células, de uma maneira geral, apresentam respostas adversas frente ao excesso de nutrientes. Dentre essas respostas está a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ERO), e o desequilíbrio entre a produção das ERO e os antioxidantes é que caracteriza o estresse oxidativo, que tem sido considerado um importante mecanismo subjacente às DCM (VINCENT et al., 2007).

As ERO são moléculas contendo oxigênio que podem ter elétrons desemparelhados, como os radicais livres, ou, embora não tenham elétrons desemparelhados, são altamente reativas, por exemplo, o peróxido de hidrogênio e o oxigênio singlete (BARREIROS et al., 2006). A presença de ERO e outras espécies relacionadas em baixas concentrações são importantes para o estado redox celular normal, as funções dos tecidos e processos de sinalização intracelular. No entanto, ERO em excesso provocam danos às moléculas lipídicas, proteínas e o DNA (VINCENT et al., 2007).

O dano provocado pelas ERO nas biomoléculas pode levar à inativação de enzimas, mutações, ruptura de membrana, aumento na aterogenicidade de lipoproteínas plasmáticas de baixa densidade e morte celular (CERQUEIRA et al., 2007). Estes efeitos desempenham um papel importante na patogênese das DCM, sendo também associados ao envelhecimento, doença de Alzheimer, doença renal e câncer (ROBERTS & SINDHU, 2009).

Ainda nessa perspectiva, tem sido considerado que um estado pró-inflamatório, derivado do estresse oxidativo, pode ser um mecanismo importante na patogênese e progressão das DCM. Da mesma forma, um aumento nas concentrações de citocinas inflamatórias pode provocar o estresse oxidativo, criando assim um ciclo vicioso. A associação complexa e íntima entre ambos, aumento do estresse oxidativo e aumento da inflamação, faz com que seja difícil estabelecer a sequência temporal da relação (BONDIA-PONS et al., 2012).

Outra alteração característica das DCM que pode ainda ser observada é a hipertensão arterial sistêmica, que geralmente está associada a outros distúrbios metabólicos, especialmente a obesidade, DM2 e dislipidemias. De fato, mais de 80% dos pacientes hipertensos apresenta um ou mais fatores de risco cardiometabólico concomitantemente (MANRIQUE et al., 2005).

Adicionalmente, o acúmulo de tecido adiposo também promove uma variedade de adaptações e alterações na estrutura e na função cardíaca, até mesmo na ausência de hipertensão sistêmica ou alterações subjacentes. Para atender o aumento das necessidades metabólicas, o volume de sangue circulante e o débito cardíaco aumentam, e essa sobrecarga desencadeia uma hipertrofia patológica (POIRIER et al., 2006).

Mesmo de forma individual, cada um desses distúrbios metabólicos está associado a resultados cardiovasculares adversos. Essa condição clínica tem uma prevalência global crescente, claramente relacionada com o estilo de vida moderno (MANRIQUE et al., 2005).

O sedentarismo e o padrão alimentar inadequado são considerados os principais fatores de risco modificáveis para as DCNT e, de acordo com o *Plano de Ações para a Estratégia Global para a Prevenção e Controle das Doenças Crônicas Não Transmissíveis – 2008 a 2013* da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2008), medidas coletivas de baixo custo que visem à redução desses fatores devem ser incentivadas.

2.2. Padrões Dietéticos e Doenças Cardiometabólicas

O padrão alimentar é considerado um dos principais fatores que contribui para o estado de saúde do indivíduo. O padrão considerado “saudável” está correlacionado com o consumo de grãos integrais, frutas, verduras, legumes, peixes, fibras e, conseqüentemente, a maioria dos micronutrientes. O padrão conhecido como “ocidental” é caracterizado pelo consumo elevado de carnes vermelhas e processadas, produtos lácteos ricos em gordura, alimentos prontos para o consumo, cereais refinados, produtos de confeitaria, bebidas adoçadas, frituras e molhos prontos (ODDY et al., 2013).

Uma grande variedade de estudos epidemiológicos tem avaliado associações entre padrões alimentares e DCM. O consenso geral entre as evidências atualmente disponíveis é que a redução do consumo de carboidratos simples, ácidos graxos saturados e *trans* e uma maior ingestão de frutas e hortaliças, ácidos graxos insaturados e grãos integrais são benéficos na prevenção dessas doenças (MENTE et al., 2009).

No que se refere especificamente aos lipídeos, os estudos que avaliaram a influência do perfil dos ácidos graxos sobre o risco de DCM têm considerado não apenas a quantidade, mas a qualidade da gordura ingerida. Meta-análises recentes de estudos de intervenção confirmam os efeitos benéficos da substituição de gordura saturada por ácidos graxos

insaturados sobre o risco do desenvolvimento de DCM (BHUPATHIRAJU & TUCKER, 2011).

Com relação aos padrões dietéticos, um modelo de dieta saudável amplamente relatado na literatura é a dieta mediterrânea. Seu alimento mais representativo é o azeite de oliva, que constitui a principal fonte de lipídeos dessa dieta (SOFI et al., 2010). Foi demonstrado que o consumo de azeite de oliva por si só melhora os fatores de risco cardiovascular, como o perfil lipídico, pressão arterial, disfunção endotelial e estresse oxidativo. O azeite de oliva é rico em MUFA, e os efeitos benéficos do consumo do azeite são atribuídos, especialmente, a esse ácido graxo (LÓPEZ-MIRANDA et al., 2010).

Um estudo desenvolvido na China por Sun et al. (2014) avaliou a associação entre o padrão alimentar e a prevalência de fatores de risco cardiometabólico em idosos. O estudo demonstrou que o padrão alimentar saudável, que inclui predominantemente peixe, carne suína, aves, legumes, frutas, nozes, produtos de soja e arroz pode reduzir os riscos do desenvolvimento de DCM, como a obesidade, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemias e DM2.

Em contrapartida, a dieta ocidental é altamente energética e pobre em micronutrientes fundamentais. Tem sido considerada a hipótese de que essa deficiência interfere na sensação de saciedade, esperada após o consumo suficiente de calorias, de modo que tal sensação não é alcançada de forma adequada (AMES, 2003). Adicionalmente, o baixo consumo de frutas e hortaliças também está correlacionado com menores concentrações de vários compostos antioxidantes, como carotenoides, vitamina C, selênio, licopeno, o que aumenta o risco do desenvolvimento de DCM, haja vista a associação dessas doenças com o estresse oxidativo (FORD et al., 2003).

O alto consumo de carboidratos simples e cereais refinados, característicos da dieta ocidental, também pode levar ao aumento das concentrações de triglicerídeos séricos, da síntese hepática de VLDL-colesterol e redução das concentrações séricas de HDL-colesterol, promovendo um perfil lipídico adverso (BRIAND et al., 2012). Além disso, o consumo recorrente de refeições de alta carga glicêmica pode promover a resistência à insulina (LIU et al., 2000).

Dessa forma, a grande quantidade de evidências científicas disponíveis sobre a relação entre a ingestão alimentar e a incidência de DCM tem levado a um crescente interesse em alimentos que forneçam benefícios fisiológicos adicionais, agindo como fator protetor,

reduzindo seu risco, ou como coadjuvante no seu controle e, ou, tratamento (JIMENÉZ-COLMENERO et al., 2001).

2.3. Alimentos/constituintes funcionais e Doenças Cardiometabólicas

Todos os alimentos são essencialmente funcionais em algum nível, uma vez que fornecem energia e nutrientes necessários para a manutenção da vida. No entanto, há evidências crescentes de que alguns componentes dos alimentos podem trazer benefícios adicionais para a saúde. Os alimentos que contêm esses componentes são chamados de “alimentos funcionais” (CROWE & FRANCIS, 2013).

Segundo o posicionamento da Academia Americana de Nutrição e Dietética, os alimentos funcionais são definidos como alimentos integrais, fortificados, enriquecidos ou melhorados, que têm um efeito potencialmente benéfico sobre a saúde quando consumidos como parte de uma dieta variada e bons hábitos de vida. A alegação da funcionalidade e as quantidades a serem consumidas devem ser fundamentadas em evidências científicas (CROWE & FRANCIS, 2013).

Para que um alimento seja considerado “funcional” ele deve atender três requisitos básicos: (1) deve ser consumido como um alimento e não como cápsulas, comprimidos ou em pó; (2) pode e deve ser consumido como parte da dieta; e (3) uma vez ingerido, tal alimento deve regular processos específicos, agindo como um reforço dos mecanismos de defesa biológica, redução do risco e, ou tratamento de doenças específicas (JIMENÉZ-COLMENERO et al., 2001).

Inúmeros alimentos vegetais ou componentes fisiologicamente ativos derivados de plantas têm sido investigados por seu papel na redução do risco de doenças (HASLER, 2002). Nesse contexto, vários estudos têm demonstrado que o consumo alimentos fontes de MUFA, como o azeite de oliva, óleo de canola, de amendoim e o abacate, está associado a um menor risco para o desenvolvimento de DCM. De um modo geral, tem-se observado que as dietas ricas em MUFA estão associadas a um melhor perfil colesterolêmico e inibição da oxidação das partículas LDL-colesterol, fator envolvido no desenvolvimento da aterosclerose (LAPOINTE et al., 2006). Essa proteção deve-se ao fato de que os MUFA são menos susceptíveis a oxidação quando comparados aos PUFA e, portanto, o enriquecimento das lipoproteínas com os MUFA diminui a sua susceptibilidade à oxidação (ROS, 2009).

Tanto do ponto de vista epidemiológico quanto clínico, são vários os trabalhos que apontam as relações benéficas entre a maior ingestão de MUFA e a redução do risco de doenças. Um estudo que acompanhou 74.886 mulheres, inicialmente sem histórico de DCM, no período de 1984 a 2004, mostrou que o maior consumo de alimentos que compõem o padrão dietético mediterrâneo, e, portanto, um maior consumo de MUFA, foi associado a um menor risco de doença coronariana e incidência de acidente vascular encefálico nessas mulheres ao longo desses 20 anos (FUNG et al., 2009).

Em um ensaio clínico com duração de 06 meses, realizado por Due et al. (2008), 46 participantes, dentre homens e mulheres, obesos e não-diabéticos, que estavam em processo de perda de peso, foram acompanhados. Os participantes foram divididos em três grupos, conforme a dieta que receberam: 1) dieta moderada em gordura e rica em MUFA, em que 35-45% da energia era proveniente de lipídeos, sendo MUFA > 20%, SFA < 10% e PUFA 5-10% da energia total; 2) dieta de baixo teor de gordura (20-30% de energia), sendo MUFA 5-15%, SFA < 10% e PUFA 5-10%; e 3) dieta controle (lipídeos representando 30-40% de energia), sendo MUFA 5-10%, SFA > 15% e PUFA 0-10%. Foi observado que a dieta moderada em gordura e rica em MUFA promoveu uma redução na glicemia de jejum e nas concentrações de insulina, sendo considerada como mais benéfica para a homeostase da glicose.

Em outro estudo, Piers et al. (2003) acompanharam 08 homens adultos com sobrepeso. Os voluntários seguiram duas dietas distintas, uma rica em MUFA e outra em SFA, durante 04 semanas cada um. As dietas eram isoenergéticas e, em ambas, 40% da energia ofertada era proveniente de lipídeos. O percentual de SFA, MUFA e PUFA foi de 24, 13 e 3% para a dieta rica em SFA e 11, 22 e 7% para a dieta rica em MUFA. Esses autores observaram que a dieta rica em MUFA promoveu maior perda de peso, redução da circunferência da cintura e da massa gorda, além de uma diminuição na pressão arterial diastólica.

Além do perfil de ácidos graxos, vários compostos antioxidantes, presentes nos alimentos vegetais, estão associados a efeitos protetores contra o desenvolvimento de DCM. Esses compostos têm sido amplamente investigados, destacando os flavonoides, tocoferóis, ácido ascórbico, e os carotenoides (GÜLÇİN, 2012).

Os carotenoides são pigmentos naturais lipossolúveis amplamente encontrados entre os vegetais, sendo responsáveis pela coloração amarelo-alaranjado de muitas frutas e hortaliças. Desde a década de 50 a atividade pró-vitamina A de alguns carotenoides é estudada, mas a partir da década de 90 esses compostos vêm sendo estudados por seu papel antioxidante. Tais propriedades fundamentam-se na estrutura dos carotenoides,

principalmente no sistema de duplas ligações conjugadas, o que torna possível a captação de radicais livres. Além disso, os carotenoides também captam energia do oxigênio singlete, que o faz retornar ao estado fundamental (STAHL & SEIS, 2005). Por causa dessas propriedades, o consumo de alimentos fonte de carotenoides é visto como um fator protetor contra o desenvolvimento de DCM, uma vez que os antioxidantes exógenos complementam os sistemas antioxidantes endógenos (Figura 01), contrabalanceando a produção excessiva de ERO decorrente do padrão dietético ocidental (LOBO et al., 2010).

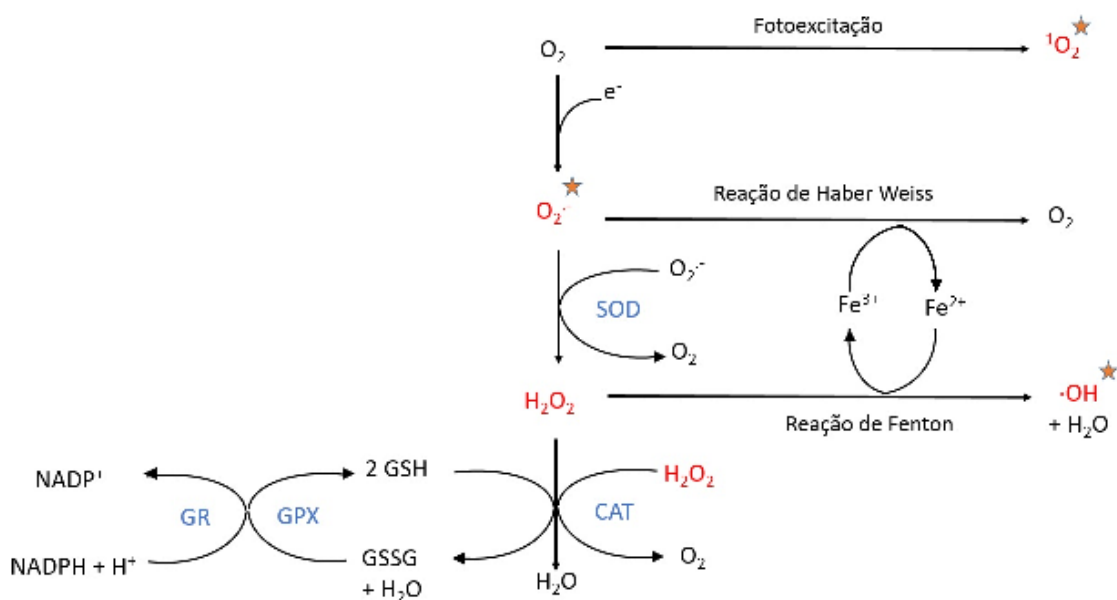


Figura 1 – Esquema representativo da atuação dos sistemas antioxidantes na defesa contra espécies reativas de oxigênio. Em vermelho as ERO: 1O_2 (oxigênio singlete), $O_2^{\cdot-}$ (ânion superóxido), H_2O_2 (peróxido de hidrogênio), $\cdot OH$ (radical hidroxila). Em azul as enzimas antioxidantes: SOD (superóxido dismutase), CAT (catalase), GPX (glutathione peroxidase), GR (glutathione reductase). O símbolo★ indica os pontos em que os carotenoides podem exercer efeitos antioxidantes. Adaptado de Temple et al. (2005).

Os carotenoides são valiosos auxiliares do sistema antioxidante endógeno, pois são capazes de sequestrar os radicais superóxido, reduzindo o substrato destinado à enzima superóxido dismutase. Além disso, o radical hidroxila, formado a partir do peróxido de hidrogênio pela reação de Fenton, tem como característica principal não possuir um antioxidante endógeno. Os carotenoides tem a capacidade de neutralizar esse radical, auxiliando de forma ainda mais peculiar o sistema antioxidante (TREVITHICK-SUTTON et al., 2006; MARUKAMI et al., 2000).

Alguns estudos têm demonstrado efeitos dos carotenoides sobre a redução do risco de DCM. Riccioni et al. (2011) compararam as concentrações plasmáticas de licopeno, em

indivíduos com ou sem evidência de aterosclerose carotídea assintomática. Dos 120 participantes, 58 apresentaram evidências de aterosclerose carotídea e, dentre esses, as concentrações séricas de colesterol total, LDL-colesterol e triglicerídeos foram mais elevadas e as concentrações plasmáticas de licopeno foram mais baixas, sugerindo que concentrações elevadas de licopeno podem ser um fator protetor contra DCM.

Um outro estudo acompanhou por um longo tempo indivíduos adultos, recrutados com idade entre 18 e 30 anos. No início do estudo, após 07 e 15 anos, foram medidas as concentrações séricas de carotenoides, como o α e β -caroteno, luteína, zeaxantina e criptoxantina. Esse trabalho mostrou que o menor risco de desenvolvimento de hipertensão estava associado a concentrações séricas mais elevadas desses carotenoides (HOZAWA et al., 2009).

Adicionalmente, Ford et al. (2003) compararam concentrações de várias vitaminas, dentre elas a vitaminas A e outros cinco carotenoides, em 8808 adultos com idade maior ou igual a 20 anos, com e sem diagnóstico de síndrome metabólica. Esses autores observaram que os participantes com síndrome metabólica apresentaram concentrações significativamente menores de ésteres de retinil, vitamina C, e carotenoides. Foi observado também nesse estudo que o consumo de frutas e vegetais foi menor entre as pessoas com a síndrome metabólica (FORD et al., 2003).

Além de estudos associativos, Wang et al. (2013) realizaram um ensaio clínico, em que foram avaliados os efeitos da luteína em voluntários não fumantes e saudáveis. O estudo contou com 117 participantes, que foram aleatoriamente designados para receber 10 ou 20 mg/dia de luteína ou placebo, durante 12 semanas. Os dados foram coletados no início e em 6 e 12 semanas após o início do tratamento. Foi observado que a capacidade antioxidante total aumentou nos grupos que receberam luteína, bem como houve redução dos níveis de peroxidação lipídica e das concentrações de proteína C-reativa de forma dependente da dose de suplementação.

Nessa perspectiva, a identificação de alimentos com propriedades funcionais que estejam relacionadas à redução do risco ou tratamento das DCM faz-se necessária. A inclusão desses alimentos na dieta, buscando a variedade e o baixo custo, é uma estratégia relevante para promover a redução da incidência dessas doenças.

2.4. Óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*): composição química e potencial funcional

O *Caryocar brasiliense*, conhecido popularmente como pequi, piqui, pequiá, amêndoa de espinho, grão de cavalo ou amêndoa do Brasil, é o fruto de uma árvore nativa dos cerrados brasileiros, pertencente à família *Caryocaraceae*. O pequizeiro, como é popularmente conhecido, está distribuído por vários estados, como Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Piauí, Rio de Janeiro, São Paulo e Tocantins (ALMEIDA et al., 1998; LIMA et al., 2007).

O pequi desperta interesse econômico e científico por apresentar várias aplicações terapêuticas e industriais, além do consumo na alimentação humana. Para a população do Cerrado, o pequizeiro é uma espécie bastante promissora, podendo ser empregada em programas de renda familiar, devido às várias formas de utilização, especialmente do fruto. (POZO, 1997).

A madeira do pequizeiro é de ótima qualidade, sendo utilizada na construção civil e naval, fabricação de móveis e como fonte de carvão para siderúrgicas, dentre outros fins. (CARVALHO, 2003). Além disso, a árvore é também considerada ornamental pela beleza de suas copas e das flores alvas (ALMEIDA et al., 1998). Sua floração ocorre durante os meses de setembro e novembro, os frutos iniciam a maturação em meados de novembro prolongando-se até o início de fevereiro. (PEREIRA et al., 2002).

Na medicina popular, o fruto do pequi é utilizado para o tratamento de doenças das vias respiratórias, tais como asma, bronquite, gripes e resfriados. As folhas e flores são utilizadas como revigorantes, afrodisíacos, e para o tratamento de doenças hepáticas, além da utilização da casca como um diurético (OLIVEIRA et al., 2012). O óleo extraído da polpa do pequi é utilizado topicamente sobre feridas, aliviando dores musculares, dores reumáticas e contusões e também auxilia no processo de cicatrização. A indústria de cosméticos utiliza o óleo da amêndoa, por ser delicado e perfumado, e também o óleo extraído da polpa, por sua atividade antioxidante e antimicrobiana (AMARAL et al., 2014).

Do ponto de vista nutricional, o óleo de pequi, que representa de 30 a 50% do peso da polpa, é rico em ácidos graxos insaturados e compostos antioxidantes, especialmente diversos carotenoides (LIMA et al., 2007). Os principais ácidos graxos do óleo de pequi são o oleico (n 18:1) e o palmítico (n 16:0), correspondendo a aproximadamente 55% e 34%, respectivamente (TEIXEIRA et al., 2013). Eles representam a maior parte da composição dos ácidos do óleo, sendo portanto, determinantes da sua qualidade.

O ácido oleico é um MUFA, que contém 18 carbonos e uma insaturação no carbono 9, sendo também conhecido como um ω -9. O azeite de oliva, amplamente utilizado na culinária mediterrânea, é composto principalmente pelo ácido oleico, que representa 70-80% de composição do azeite (OWEN et al., 2000), e seus efeitos benéficos são atribuídos principalmente a este perfil (SALES-CAMPOS et al., 2013). Outros alimentos que contêm o ácido oleico também têm sido investigados e positivamente associados à diminuição do risco para DCM, como nozes, amêndoas, castanha de caju, amendoim, chocolate escuro e abacate (SIRIWARDHANA et al., 2013; LAPOINTE et al., 2006).

Embora o ácido oleico seja o principal componente do óleo de pequi, os SFA também estão presentes, principalmente o ácido palmítico. Esse ácido graxo é o mais abundante na dieta e na síntese endógena (SANDERS et al., 2011). O consumo dietético elevado de ácido palmítico promove uma elevação na razão LDL/HDL-colesterol, um fator de risco cardiometabólico (KIEN et al., 2014). Além disso, os SFA podem aumentar a saturação de fosfolípidios de membrana e também afetar o metabolismo mitocondrial, levando a acumulação de ERO (LEAMY et al., 2013). A natureza do lipídeo e, ou da sinalização molecular podem diferir entre os tipos de células, entretanto, de maneira geral, o estresse oxidativo está envolvido no processo (WEI et al., 2006).

Embora seja bem reportado os efeitos deletérios do ácido palmítico, tem sido também demonstrado que o ácido oleico, quando em maiores doses que o palmítico, exerce um efeito protetor contra a citotoxicidade deste ácido em células exócrinas do pâncreas (AHN et al., 2013), hepatócitos (RICCHI et al., 2009), cardiomiócitos (MILLER et al., 2005) e miócitos (YUZEFOVYCH, WILSON & RACHEK, 2010).

Além da composição em ácidos graxos do óleo de pequi, há ainda que se considerar o alto teor de carotenoides. Este óleo apresenta um total de aproximadamente $42 \text{ mg} \cdot 100^{-1}$ (RIBEIRO et al., 2012). Dentre os carotenoides encontrados no óleo de pequi destacam-se a anteraxantina, a zeaxantina, a violaxantina e a luteína, mas também apresentam quantidades importantes de β -caroteno, licopeno, criptoflavina, β -criptoxantina, neoxantina dentre outros (AZEVEDO-MELEIRO & RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; OLIVEIRA et al., 2006; LIMA et al., 2007).

Nota-se que a quantidade expressiva de MUFA e carotenoides do óleo do pequi o colocam como um potencial alimento protetor. No entanto, ainda são poucos os trabalhos que avaliaram efeitos biológicos advindos da ingestão deste óleo. Miranda-Vilela et al. vêm estudando o potencial antioxidante do óleo do pequi no câncer e em corredores. Em

camundongos foi observado que o óleo do pequi foi mais eficaz que outros tratamentos com antioxidantes na contenção do crescimento tumoral e metastase, além potencializar o tratamento e reduzir os efeitos secundários associados aos danos oxidativos provocados pela quimioterapia (MIRANDA-VILELA et al., 2014; 2013; 2011a). Nos estudos com corredores esse grupo mostrou que a suplementação com óleo de pequi exerceu efeitos anti-inflamatórios e hipotensores, além de reduzir a anisocitose e os danos aos tecidos e ao DNA decorrentes do estresse oxidativo induzido pelo exercício (RIBEIRO et al., 2014; MIRANDA-VILELA 2011b; 2010; 2009a; 2009b).

Por outro lado, Aguilar et al. (2012) demonstraram efeitos paradoxais do óleo de pequi na aterogênese. Enquanto uma dieta rica em óleo de pequi reduziu a velocidade da aterogênese em estágios iniciais (atribuído à sua capacidade antioxidante), levou também a um aumento das concentrações séricas de colesterol total e LDL-colesterol, o que favoreceu o aumento das placas ateroscleróticas em estágio mais avançado, o que foi atribuído ao alto conteúdo de ácido palmítico.

Em um estudo preliminar do nosso laboratório foi demonstrada a atividade antioxidante *in vitro* do extrato metanólico da polpa de pequi, que apresentou atividade antioxidante por captura de radicais livres (DPPH e ABTS) e poder de redução do Ferro (FRAP) elevada em comparação com os outros frutos avaliados nesse estudo (MORAIS et al., 2013).

Em um ensaio biológico com duração de 28 dias, realizado por nosso grupo, foi avaliado em ratos os efeitos da adição de polpa de pequi, de forma a ofertar 400 ou 600 mg por dia. Não foram observadas alterações nas concentrações séricas de colesterol total e glicemia de jejum. A adição de 600 mg promoveu o aumento das concentrações séricas de HDL-colesterol mas também de triglicerídeos (TEIXEIRA et al., 2013). Em outro estudo, também com animais, observamos que o consumo de uma dieta suplementada com óleo de pequi associado ao exercício físico aeróbico regular melhorou a capacidade de contração e relaxamento cardíacos, favorecendo a função desse órgão (OLIVEIRA, 2014).

3. OBJETIVOS

Considerando que o padrão de consumo alimentar ocidental favorece o desenvolvimento das DCM, e que o óleo do pequi é um potencial alimento protetor contra o desenvolvimento dessas doenças, mas ainda não foi explorado nesse contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da substituição parcial da banha de porco (rica em SFA) por óleo de *Caryocar brasiliense* – pequi (rico em MUFA e carotenoides) em uma dieta de padrão ocidental, sobre o metabolismo, função cardíaca e estado redox celular de ratos, desde estágios iniciais da vida até o início da vida adulta.

Os objetivos específicos foram avaliar, em ratos, a influência da substituição parcial da banha de porco por óleo *Caryocar brasiliense* (pequi) na dieta ocidental:

- em marcadores da adiposidade, do metabolismo lipídico e da glicose;
- na função cardíaca;
- no estado redox do plasma, tecidos hepático e cardíaco.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Obtenção de óleo de pequi

O óleo de pequi foi adquirido da empresa Arruda Indústria e Comércio de Temperos e Condimentos, localizada na cidade de Taiobeiras-MG, em recipientes de vidro âmbar e armazenados à $5 \pm 3^\circ\text{C}$ até o momento da sua utilização.

4.2. Ensaio Biológico

4.2.1. Animais e condições experimentais

Foram utilizados 36 ratos machos da linhagem *Wistar*, com aproximadamente 25 dias de vida. O experimento foi conduzido em ciclo claro-escuro de 12-12 horas invertido ao ciclo regular e em temperatura ambiente entre 21-24 °C. Todos os procedimentos com os animais e o protocolo de eutanásia estavam de acordo com os princípios e diretrizes adotadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O protocolo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) (Protocolo n. 03/2013).

4.2.2. Grupos experimentais

No primeiro dia do período experimental, os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais, a saber: CTRL – animais que receberam dieta controle, AIN93G (n=12); HFS – animais que receberam a dieta alta em gordura e açúcar – *high fat sucrose* (n=12); HFS-OP – animais que receberam dieta alta em gordura e açúcar, com substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi.

4.2.3. Dietas

Foram formuladas dietas purificadas, com composição baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES et al., 1993). As dietas foram rotuladas como controle (CTRL), dieta alta em gordura e açúcar – *high fat/sucrose* (HFS) e dieta óleo

de pequi (HFS-OP). A composição da dieta CTRL foi conforme a AIN93G. A dieta HFS teve sua composição basal ajustada de modo a tornar-se alta em sacarose e gordura saturada, proveniente da banha de porco. A dieta OP teve a composição semelhante à HFS, porém com parte da banha de porco substituída por óleo de pequi (27%).

O cálculo da quantidade de óleo de pequi que foi utilizado em substituição à banha de porco foi baseado na ingestão diária de 02 porções de óleo, sendo considerada a medida caseira de uma colher de sopa como uma porção, dentro de uma dieta de 1800 kcal. Optou-se por substituir no conteúdo de banha para promover alteração na proporção de SFA/MUFA da dieta, e de modo a oferecer um percentual de MUFA adequado, segundo Lopez-Huertas (2010). A Tabela 1 apresenta a composição das dietas experimentais.

Tabela 1 – Composição das dietas experimentais.

Ingrediente	Quantidade g/kg dieta		
	CTRL	HFS	HFS-OP
Proteína (caseína)	200,0	200,0	200,0
Amido dextrinizado	132,0	100,0	100,0
Sacarose	100,0	341,0	341,0
Celulose microfina	50,0	50,0	50,0
Óleo de soja	70,0	10,0	10,0
Mix mineral	35,0	35,0	35,0
Mix vitaminas	10,0	10,0	10,0
L-cistina	3,0	3,0	3,0
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,5
Amido de milho	397,5	48,5	48,5
Banha de porco	--	200,0	146,0
Óleo de Pequi	--	--	54,0
Total	1000,0	1000,0	1000,0

CTRL = dieta controle (AIN93G); HFS = Dieta AIN93G ajustada no seu conteúdo de sacarose e inclusão de banha de porco; HFS-OP = Dieta HFS, com substituição de 27% da banha de porco por óleo de pequi.

A dieta CTRL forneceu 394,8 kcal/100g, sendo 63,7% de carboidratos, 15,9% de lipídeos e 20,2% de proteínas. As dietas HFS e HFS-OP forneceram 464,8 kcal/100g, sendo 42,1% de carboidratos, 40,7% de lipídeos e 17,2% de proteínas.

4.3. Desenho experimental

O estudo teve duração de 12 semanas. Por um período de 06 dias, antecedentes ao início do período experimental, os animais foram alojados individualmente em gaiolas de aço inoxidável e receberam ração comercial para roedores e água filtrada, com o objetivo de se adaptarem às condições ambientais e alimentares. Durante todo o período experimental os animais tiveram livre acesso às dietas e à água filtrada.

Os dados referentes ao peso corporal foram coletados semanalmente e à ingestão alimentar foram coletados três ou quatro vezes durante a semana durante todo período experimental. A pressão arterial sistólica (PAS) e frequência cardíaca (FC) foram aferidas na 3ª e 10ª semanas do período experimental.

Na última semana do experimento, os animais foram pesados e anestesiados para aferição do comprimento nariz-anus. As fezes foram coletadas nas últimas 72 horas do período experimental para análises posteriores. No último dia do experimento, os animais foram eutanasiados por decapitação para coleta de amostras de sangue, órgãos e tecidos para análises posteriores (Figura 2).

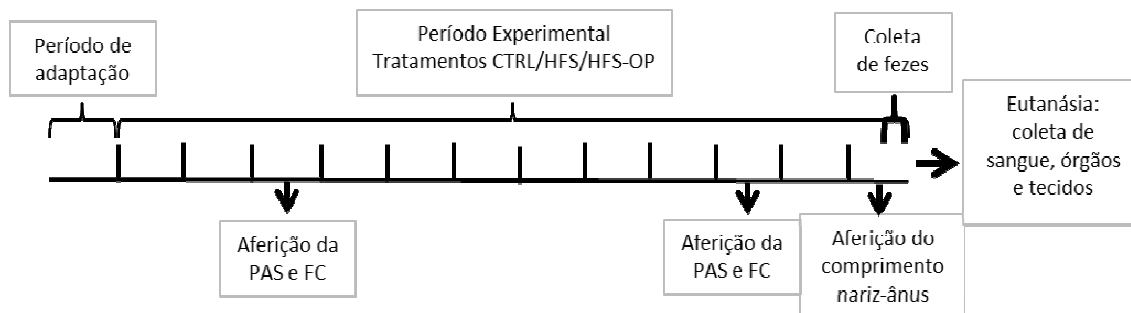


Figura 2- Esquema ilustrativo do protocolo experimental de 12 semanas. Tratamentos: CTRL - animais que receberam dieta AIN93G; HFS - animais que receberam dieta alta em gordura e açúcar; HFS-OP - animais que receberam dieta alta em gordura e açúcar com substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi.

4.4. Procedimentos de análise

4.4.1. Variáveis de controle experimental

Peso Corporal

O peso corporal dos animais foi aferido semanalmente em balança semi-analítica. O ganho de peso final (g) foi calculado como:

$$GP\ final(g) = \text{Peso corporal final} - \text{peso corporal inicial}.$$

Ingestão alimentar e energética

A ingestão alimentar foi monitorada durante todo o período experimental e calculada semanalmente utilizando a seguinte equação:

$$IA(g) = \text{Peso comedouro cheio} - (\text{peso comedouro vazio} + \text{peso sobras}).$$

A ingestão alimentar total foi obtida por meio da somatória das ingestões de todo o período experimental.

A ingestão energética foi calculada semanalmente e também ao final do período experimental por meio da multiplicação das quantidades ingeridas de carboidratos, lipídeos e proteína pelos fatores 4, 9 e 4 respectivamente (BUCHHOLZ & SCHOELLER, 2004).

4.4.2. Variáveis relacionadas ao metabolismo

Índice de Lee (IL) e Índice de Adiposidade (IAd.)

Na 12ª semana, a última do período experimental, os animais foram pesados e em seguida anestesiados com aplicação intraperitoneal de quetamina+xilazina/50mg/kg+10mg/kg para a aferição do comprimento nariz-anus e posterior determinação índice de Lee (NOVELLI, et al., 2007), por meio da equação:

$$IL = [\sqrt[3]{\text{peso corporal (g)} \div \text{comprimento nariz-ânus(cm)}}] * 10$$

No último dia do experimento, os animais foram eutanasiados por decapitação. Em seguida, tiveram suas cavidades abdominais abertas para a retirada de toda a gordura das regiões epididimal e retroperitoneal, que foram limpas, imersas em solução salina, secas e pesadas individualmente em balança analítica. Foi calculado o índice de adiposidade (BOUSTANY et al., 2004), conforme a equação:

$$IAd. (\%) = \frac{(\text{peso da gordura epididimal} + \text{peso da gordura retroperitoneal})}{\text{peso corporal final} - \sum \text{peso da gordura epididimal} + \text{retroperitoneal}} * 100$$

Lipídeos séricos, hepáticos e fecais

Nas 08 horas antecedentes à eutanásia, os animais foram submetidos ao jejum. No momento imediato da decapitação o sangue dos animais foi coletado em tubos sem anticoagulante para obtenção do soro. Os tubos foram centrifugados a 1000 x g durante 10 minutos à temperatura de 12 °C. Após a centrifugação, o soro foi aliqotado em tubos do tipo *eppendorf* (2 ml) e armazenado a -80°C até o momento das análises, que foram feitas utilizando kits bioquímicos da marca Bioclin®, de acordo com procedimentos recomendados, em analisador bioquímico semiautomático (PIOWAY-3000). Foram determinadas as concentrações séricas de colesterol total, HDL-colesterol, e triglicerídeos.

As fezes das últimas 72 horas foram coletadas e armazenadas a -20 °C. Os fígados dos animais foram coletados logo após a eutanásia e foram armazenados a -80 °C. Para realização das análises as amostras foram desidratadas em estufa a 65 °C por 48 horas e os lipídios foram extraídos conforme procedimento descrito por Folch et al. (1957). Em seguida, os extratos obtidos das amostras de fezes e fígados foram utilizados para dosagem do colesterol total e triglicerídeos. As análises foram feitas utilizando kits bioquímicos da marca Bioclin®, de acordo com procedimentos recomendados, em analisador bioquímico semiautomático (PIOWAY-3000).

Glicemia, insulinemia de jejum e determinação da resistência à insulina

A determinação da glicemia de jejum foi realizada utilizando uma alíquota de soro coletada e processada conforme descrito acima. Foi utilizado o kit de determinação bioquímica da marca Bioclin®, de acordo com procedimentos recomendados pelo fabricante, em analisador bioquímico semiautomático (PIOWAY-3000).

A dosagem plasmática de insulina de jejum foi determinada por meio da técnica *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – ELISA, utilizando kit apropriado (Rat/mouse insulin ELISA kit, EMD Millipore, Missouri, USA) e com auxílio de leitor de microplaca Spectra MAX 190 (Molecular Devices, USA). O plasma foi obtido pela coleta de sangue imediatamente após a decapitação em tubos contendo EDTA. Os tubos foram centrifugados a 1000 x g durante 10 minutos à temperatura de 12 °C. Após a centrifugação, o plasma foi

aliquotado em tubos do tipo *eppendorf* (2 ml) e armazenado a -80°C até o momento das análises.

A resistência a insulina foi determinada pelo modelo de avaliação da homeostase de resistência à insulina (HOMA-IR) a partir dos valores de glicemia e insulinemia de jejum (MATTHEWS et al., 1985), de acordo com a equação:

$$HOMA-IR = \text{glicemia (mmol/l)} * \text{insulina (uU/ml)} \div 22,5$$

Leptina e adiponectina plasmáticas e cálculo da razão leptina/adiponectina

As dosagens plasmáticas de leptina e adiponectina foram determinadas por meio da técnica *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – ELISA, utilizando kit apropriado (Rat leptin ELISA kit, EMD Millipore, Missouri, USA e Rat adiponectin ELISA kit, EMD Millipore, Missouri, USA) e com auxílio de leitor de microplaca Spectra MAX 190 (Molecular Devices, USA). A partir dos valores obtidos foi calculada a razão leptina/adiponectina. (FINUCANE et al., 2009)

Histologia dos tecidos hepático e adiposo retroperitoneal

Após serem limpos e pesados, uma parte do fígado (lobo direito) e amostras de tecido adiposo retroperitoneal foram destinadas às análises histológicas. Os tecidos foram fixados com formalina tamponada 10% e submetidos à desidratação com gradiente crescente de álcool (70, 80, 90 e 100%). Os tecidos foram submetidos ao processo de diafanização, no qual o álcool presente nos tecidos é substituído por xilol, e logo após o processo de impregnação, em que o xilol é substituído por parafina fundida em estufa a 60°C. Foi feita a montagem dos blocos, nos quais retirou-se cortes de 5 µm, com intervalos de 20 cortes, utilizando um micrótomo (Lupetec MRP09). Foram confeccionadas as lâminas e os cortes foram corados de acordo com a técnica de hematoxilina-eosina (HE). Os campos foram fotografados utilizando uma câmera digital acoplada a um microscópio, em uma ampliação de 400 vezes para todos os cortes.

Para o tecido hepático, o grau de esteatose foi classificado de I a IV, com base no percentual médio de gordura acumulado nos hepatócitos por campo, sendo I <25%, II entre 25 e 50%, III entre 50 e 75% e IV >75% (Tzeng et al., 2013). A infiltração gordurosa foi ainda classificada como micro ou macrovesicular. No tecido adiposo retroperitoneal foram medidas as áreas de 100 adipócitos por animal para avaliar a hipertofia.

4.4.3. Variáveis relacionadas à função cardíaca

Pressão arterial sistólica e frequência cardíaca

A pressão arterial sistólica (PAS) e frequência cardíaca (FC) foram aferidas na 3^a e 10^a semanas do período experimental. Utilizou-se o método não invasivo e indireto de pletismografia da artéria caudal (MLT1020PPG IR Plethysmograph, PowerLab). Os animais foram mantidos em cilindro de acrílico sob contenção de movimento e submetidos a aquecimento moderado em caixa aquecedora (40° C, por 10 min) para provocar vasodilatação da artéria caudal. O procedimento de registro foi realizado através da inserção da cauda em um manguito de borracha, ligado ao esfigmomanômetro, na região proximal da cauda e, logo após, um transdutor pneumático foi utilizado para detecção dos pulsos permitindo o registro no sistema (ADInstruments Ltd, UK). Através do registro de pulso foi determinado o valor de PAS e derivada a FC.

Função cardíaca ex vivo

Para esta análise, foi utilizado um sistema adaptado de coração isolado de Langendorff com fluxo constante. Foi previamente preparado um banho de órgãos conectado a um reservatório contendo solução nutritora de Krebs-Ringer (mM): NaCl 118,41; KCl 4,69; KH₂PO₄ 1,17; MgSO₄ x 7 H₂O 1,17; CaCl₂ x 2 H₂O 2,51; dextrose anidra 1,65; NaHCO₃ 26,24. O fluxo de perfusão foi mantido em 7-8 ml/min. A solução nutritora foi oxigenada com mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂) e mantida a 37±1 °C através da circulação de água aquecida em uma jaqueta de água.

O coração foi retirado imediatamente após a decapitação e colocado em uma placa de Petri contendo solução nutritora oxigenada e gelada (± 4°C). Os restos de tecido que acompanham o coração foram removidos. A aorta ascendente foi seccionada na altura de sua primeira ramificação (tronco braquiocefálico) e seu coto foi fixado com linha de sutura na ponta da cânula de aço inoxidável acoplada ao sistema de perfusão, visando sempre a integridade da válvula aórtica.

Para registro da força contrátil, um pequeno gancho de aço inoxidável foi fixado ao ápice do ventrículo esquerdo e conectado ao transdutor de força. Uma tensão de aproximadamente 1,0±0,2g foi aplicada ao coração (tensão diastólica) e mantida constante durante o experimento. Para registro da pressão ventricular, um balão foi introduzido no interior do ventrículo esquerdo passando primeiramente pelo átrio esquerdo. Após sua

introdução, o balão foi inflado e as variações de pressão foram captadas por um transdutor de pressão ventricular.

A frequência cardíaca (FC) e as derivadas de pressão pela derivada de tempo (Dp/Dt) foram calculadas a partir das medidas diretas de pressão ventricular. Os sinais foram amplificados e registrados por meio de um sistema de aquisição e análise de dados analógico-digital (LabChart7, ADInstruments, EUA). Após 30 minutos de coleta dos dados, a atividade cardíaca foi interrompida pela infusão de KCl 10%.

4.4.4. Estado redox celular

Processamento dos tecidos

Foram utilizadas amostras de plasma, tecidos hepático e cardíaco. As amostras de plasma não necessitam de processamento prévio. As amostras de tecidos (em torno de 300 mg) foram macerados em 1,5 ml de tampão fosfato de salina (PBS) (NaCl 1,50 M; Na_2HPO_4 0,08M; NaH_2PO_4 0,02M, pH 7,3), utilizando o *potter-elvehjem*. Os homogenatos teciduais utilizados para os ensaios foram centrifugados a 10.000 x g por 10 min, a 4 °C. Após centrifugações, o sobrenadante foi aliqotado e armazenado a -80°C. Para correção dos valores encontrados foi feita a dosagem de proteínas pelo método de Bradford (1976).

Capacidade Antioxidante Total – Ferric Reducing Antioxidant Power – FRAP

A capacidade de redução do Fe^{3+} a Fe^{2+} no plasma e nos tecidos hepático e cardíaco foi determinada em duplicata, utilizando o método FRAP (*ferric reducing antioxidant power*), conforme Benzie e Strain (1996) com algumas adaptações. O reagente FRAP foi elaborado ao abrigo de luz com 25 ml de tampão acetato (0,3 M), 2,5 ml de *Tripyridyltriazine* - TPTZ Sigma Aldrich (10 mM), dissolvido em HCl (40 mM) e 2,5 ml de FeCl_3 (20 mM). Para o ensaio, 72 μL dos homogenatos teciduais e 42 μL de plasma foram incubados com o reagente FRAP por 30 min a 37°C em tubos *ependorf*. Após centrifugação da mistura de reação a 10000 x g por 10 minutos, o sobrenadante foi analisado em leitor de microplaca (Spectra Max Molecular Device) a 595 nm. Uma curva padrão, com concentrações crescentes de FeSO_4 , foi utilizada para estimar a concentração de Fe^{2+} nas amostras, expressa em μM de equivalente de $\text{Fe}^{2+} \cdot \text{mg}^{-1}$ de proteína.

Peroxidação lipídica

A concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi mensurada de acordo com o método descrito por Ohkawa et al. (1979) nas amostras de plasma e homogenatos de tecidos hepático e cardíaco.

Foram utilizados 400µL de plasma aos quais foram adicionados ácido acético 2,5M (pH 3,4) e ácido tiobarbitúrico a 0,8%, em duplicata. Aos homogenatos dos tecidos hepático (70 µL) e cardíaco (100 µL) foram adicionados duodecil sulfato de sódio (SDS) a 8,1%, ácido acético 2,5M (pH 3,4) e ácido tiobarbitúrico a 0,8%, em duplicata.

As misturas foram incubadas por 90 minutos a 95° C. A concentração de TBARS foi determinada pela leitura das amostras em leitor de microplaca Spectra Max Molecular Device à 532nm, comparada a uma curva padrão com concentrações conhecidas de malondialdeído (MDA) (1,1,3,3-tetramethoxypropane) (Sigma, USA) como um padrão externo. Os resultados foram expressos em nmol de MDA/mg protein.

Atividade da enzima catalase

A atividade da enzima catalase (CAT) foi determinada conforme descrito por Nelson e Kiesov (1972), a partir da metabolização do peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e consequente decaimento da absorbância em espectrofotômetro. Foram utilizados 20 µL do homogenato do tecido, em duplicata, aos quais foram acrescentados 700 µL de tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7,0). A reação foi iniciada com a adição do 15 µL de H₂O₂ (0,3 M). O tampão e as amostras foram mantidos em banho-maria à temperatura de 25°C e a leitura foi realizada a 240 nm em espectrofotômetro (UV mini-1240 UV VIS SHIMADZU) durante 60 segundos. A atividade da enzima foi expressa em ΔE/min/mg de proteína, sendo que ΔE corresponde a variação da atividade da enzima durante um minuto.

Atividade da enzima superóxido dismutase

O ensaio para determinação da atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) foi realizado de acordo com Marklund e Marklund (1974) no tecido hepático, em duplicata. Foram utilizados 150 µL do homogenato, que foram diluídos em tampão fosfato de potássio (50mM, pH 8,2) contendo 1mM de ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA) (Aldrich Chemistry), para uma solução final de 600 µL. A reação foi iniciada com a adição de pirogalol Sigma (0,2mM). A leitura da absorbância foi realizada a 37 °C e no modo cinético,

durante 250 segundos, com intervalos de 10 segundos entre as leituras. Utilizou-se o leitor de microplacas Spectra Max Molecular Device, a 420 nm. A determinação da atividade da enzima dada em U/mg foi feita a partir da capacidade da superóxido dismutase em inibir a autooxidação do pirogalol, onde 1U = 50% de inibição da autooxidação do pirogalol.

Atividade da enzima glutathione peroxidase

A atividade da enzima glutathione peroxidase (GPx) foi avaliada em amostras de tecido hepático utilizando kit comercialmente disponível e de acordo com as especificações do fabricante (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, USA, kit n. 703102).

4.5. Análises estatísticas

O experimento foi realizado em um delineamento em blocos casualizados com 3 tratamentos e 5 blocos. Todos os resultados foram expressos em médias \pm erros padrões. Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para avaliar diferenças entre os tratamentos e o teste de comparações múltiplas de Tukey, *à posteriori*, quando necessário. Para todas as análises estatísticas, foi adotado como nível de significância $p < 0,05$ e o software Statistica versão 10.0. Os gráficos foram gerados no software Sigmaplot, versão 12.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Variáveis de controle experimental

No início do período experimental, os pesos corporais dos animais eram homogêneos ($64,45 \pm 1,34$ gramas) (Figura 3A). Após as 12 semanas de tratamento, o peso corporal médio dos animais do grupo HFS-OP foi semelhante ao dos HFS, e estes foram superiores ao CTRL ($p < 0,05$) (Figura 3B). Por outro lado, a ingestão alimentar total dos animais HFS-OP foi semelhante aos HFS, e ambos ingeriram menos que os CTRL ($p < 0,05$) (Figura 3C). Isso ocorreu porque ratos tendem a ingerir quantidade de alimento de acordo com suas necessidades energéticas (PATTERSON & LEVIN, 2008).

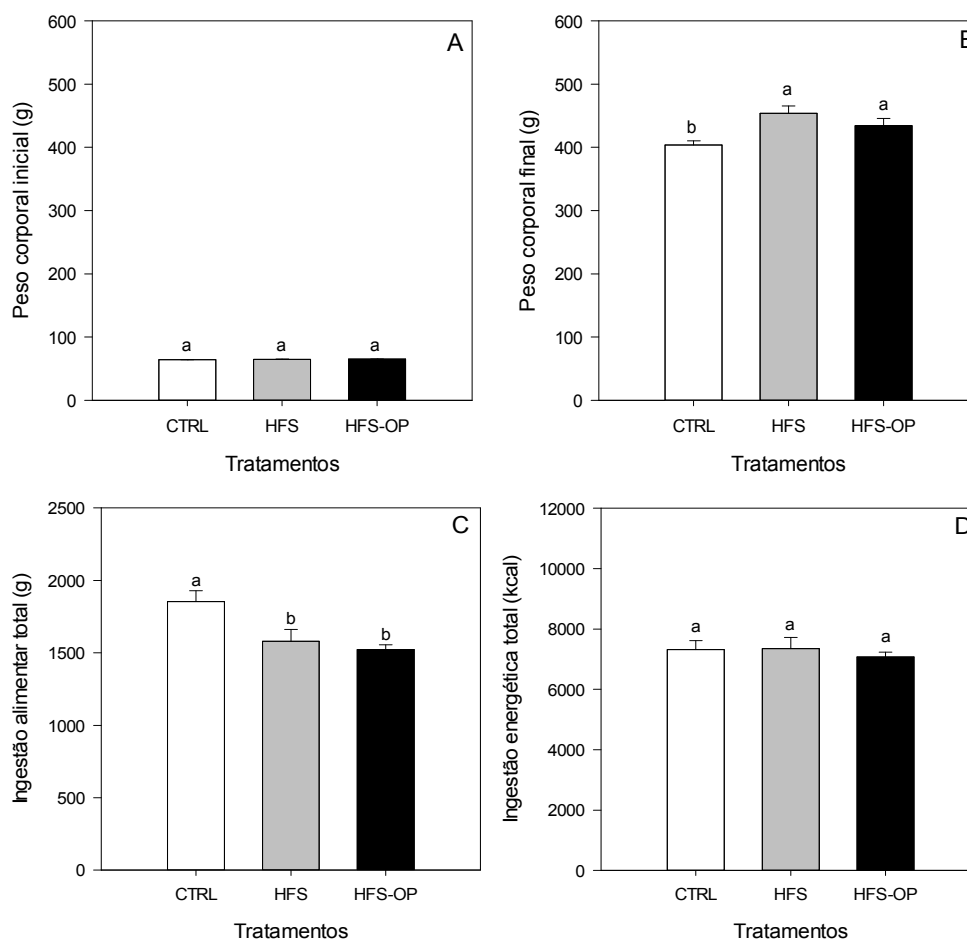


Figura 3: Peso corporal inicial (A), peso corporal final (B), ingestão alimentar total (C), ingestão energética total (D) dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP=Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p < 0.05$.

As dietas HFS-OP e HFS eram isoenergéticas entre si, porém de maior densidade energética que CTRL. De fato, não observamos diferenças entre os grupos experimentais para ingestão energética (Figura 3D), apesar do maior peso corporal final para os animais HFS e HFS-OP (Figura 3B). Este efeito pode ser atribuído à composição diferencial das dietas. A dieta ocidental, rica em gordura e sacarose, resulta em alterações metabólicas, maior ganho de peso e alterações na composição corporal dos animais, de maneira semelhante à observada em humanos (NILSSON et al., 2012).

Está bem esclarecido que o consumo intermitente de refeições com alta carga glicêmica induz uma série de alterações hormonais que estão relacionadas com a obesidade e outras DCM (CORDIAN et al., 2005). Além disso, o consumo elevado de gordura a longo prazo é capaz de romper a homeostase energética, favorecendo o aumento do peso corporal (WOODS et al., 2003) e provocando distúrbios metabólicos associados, tais como resistência à insulina, dislipidemias, dentre outros. Neste caso, a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi não exerceu efeito diferencial.

5.2. Variáveis relacionadas ao metabolismo

Para o Índice de Lee não foram detectadas diferenças entre os grupos HFS e HFS-OP, sendo estes superiores ao CTRL ($p<0,05$) (Figura 4A). Para o índice de adiposidade, o grupo HFS-OP apresentou valores semelhantes a CTRL, sendo estes inferiores a HFS ($p<0,05$) (Figura 4B).

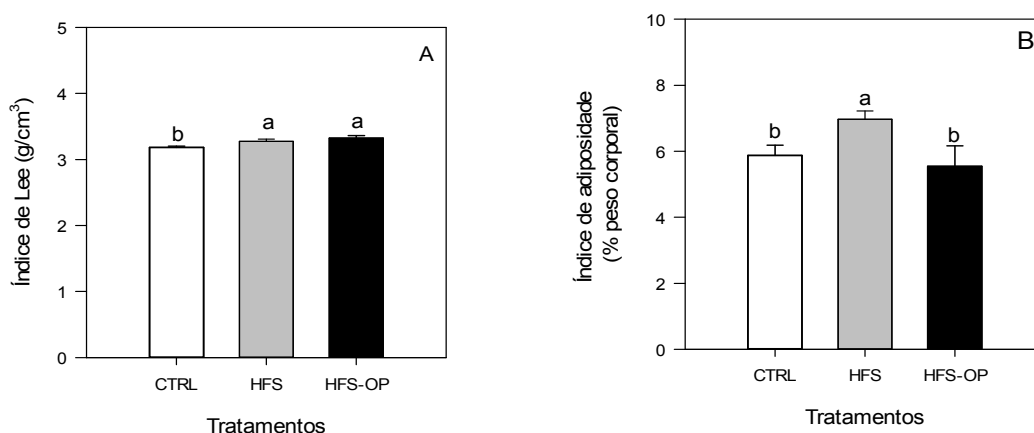


Figura 4: Índice de Lee (A) e índice de adiposidade (B) dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP= Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p<0.05$. Índice de Lee = $[\sqrt[3]{\text{peso corporal (g)} \div \text{comprimento nariz-ânus(cm)}}] \times 10$ e IAd.(%) = $(\text{peso da gordura epidimal} + \text{peso da gordura retroperitoneal}) \div (\text{peso corporal final} - \sum \text{peso da gordura epidimal} + \text{retroperitoneal}) \times 100$.

Sabe-se que a dieta ocidental, pelo seu elevado teor de gordura saturada e alta carga glicêmica, favorece a deposição de gordura na região visceral (AZZOUT-MARNICHE et al., 2014), e que o tecido adiposo desta região é mais metabolicamente ativo, mais sensível à lipólise e mais resistente a ação da insulina do que o tecido adiposo localizado na região subcutânea (IBRAHIM, 2010). Assim, para o grupo HFS-OP, podemos inferir que a modificação no perfil de ácidos graxos da dieta afetou positivamente a topografia da distribuição da gordura, já que o índice de adiposidade foi determinado com base nos pesos das gorduras das regiões retroperitoneal e epididimal.

Este resultado foi reforçado pela observação de que, do ponto de vista histológico, a dieta ocidental promoveu a hipertrofia dos adipócitos em HFS ($p<0,05$), e que a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi atenuou este efeito em HFS-OP, sendo este semelhante a CTRL (Figura 5).

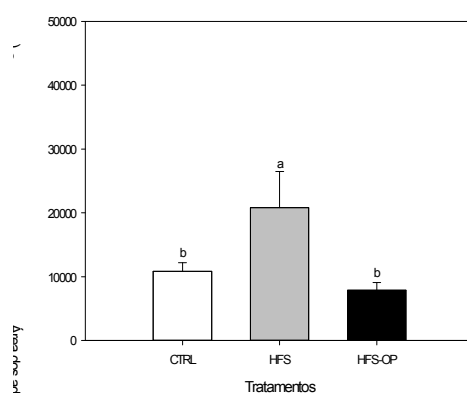


Figura 5: Tamanho dos adipócitos (μm^2) do tecido adiposo retroperitoneal após 12 semanas de tratamento. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP= Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p<0.05$.

Essa alteração é crucial, uma vez que o acúmulo de gordura na região visceral está intimamente associado com as alterações metabólicas (BAYS et al., 2008). De fato, tem sido observado que a topografia da distribuição da gordura influencia mais que o peso corporal no desenvolvimento das DCM, devido às particularidades dessa microrregião (KARELIS et al., 2004). A alteração na distribuição da gordura observada em HFS-OP pode estar associada ao maior aporte de MUFA proveniente do óleo do pequi. De acordo com Paniagua et al. (2007), dietas ricas em MUFA estão associadas com uma menor deposição de gordura na região visceral. Desse modo, podemos inferir que a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi exerceu um efeito protetor frente ao acúmulo de gordura nessa região específica.

Metabolismo lipídico

A figura 6 mostra que as dietas ocidentais (HFS e HFS-OP) provocaram elevação nas concentrações séricas de colesterol total (6A) e triglicerídeos (TG) (6C) e redução do HDL-colesterol (6B) em relação ao CTRL ($p<0,05$). Os efeitos observados para HFS-OP foram semelhantes à HFS.

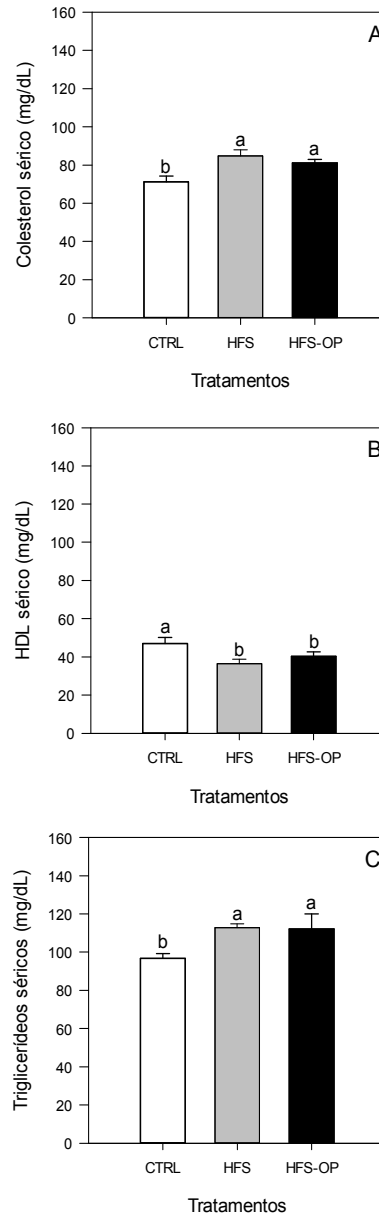


Figura 6 – Concentrações séricas de colesterol total (A), HDL-colesterol (B), triglicerídeos (C) dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP= Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p<0.05$.

Tem sido relatado que a dieta ocidental é capaz de promover alterações no metabolismo lipídico de animais experimentais, de maneira semelhante à observada em seres humanos (BUETTNER et al., 2007). De acordo com Briand et al. (2012), além de provocar o aumento das concentrações de TG e colesterol séricos, a dieta ocidental está associada ao aumento da síntese hepática de VLDL-colesterol e redução das concentrações de HDL-colesterol, o que contribui para o estabelecimento da dislipidemia no organismo.

Além disso, a interação de vários tecidos no controle da homeostase lipídica é perturbada em animais ou seres humanos que consomem a dieta ocidental, pois o excesso de TG começa a ser armazenado em outros tecidos além do tecido adiposo, incluindo o músculo esquelético, o coração, os rins e principalmente o fígado. (MUOIO & NEWGARD, 2006).

No presente estudo, foram também avaliadas as concentrações hepáticas e fecais de colesterol, para as quais não houve diferença entre os grupos HFS-OP e HFS, que foram superiores ao CTRL ($p < 0,05$) (Figura 7A e 7C). Neste caso, a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi não exerceu impactos diferenciais, prevalecendo os efeitos tóxicos da sobrecarga lipídica e de carboidratos simples. Entretanto, de maneira muito interessante, observamos que as concentrações de TG hepáticos em HFS-OP foram semelhantes ao CTRL, sendo inferiores à HFS ($p < 0,05$) (Figura 7B). Já para a excreção fecal desses lipídeos, os maiores valores foram para HFS e HFS-OP, sendo ambos maiores que CTRL ($p < 0,05$) (Figura 7D).

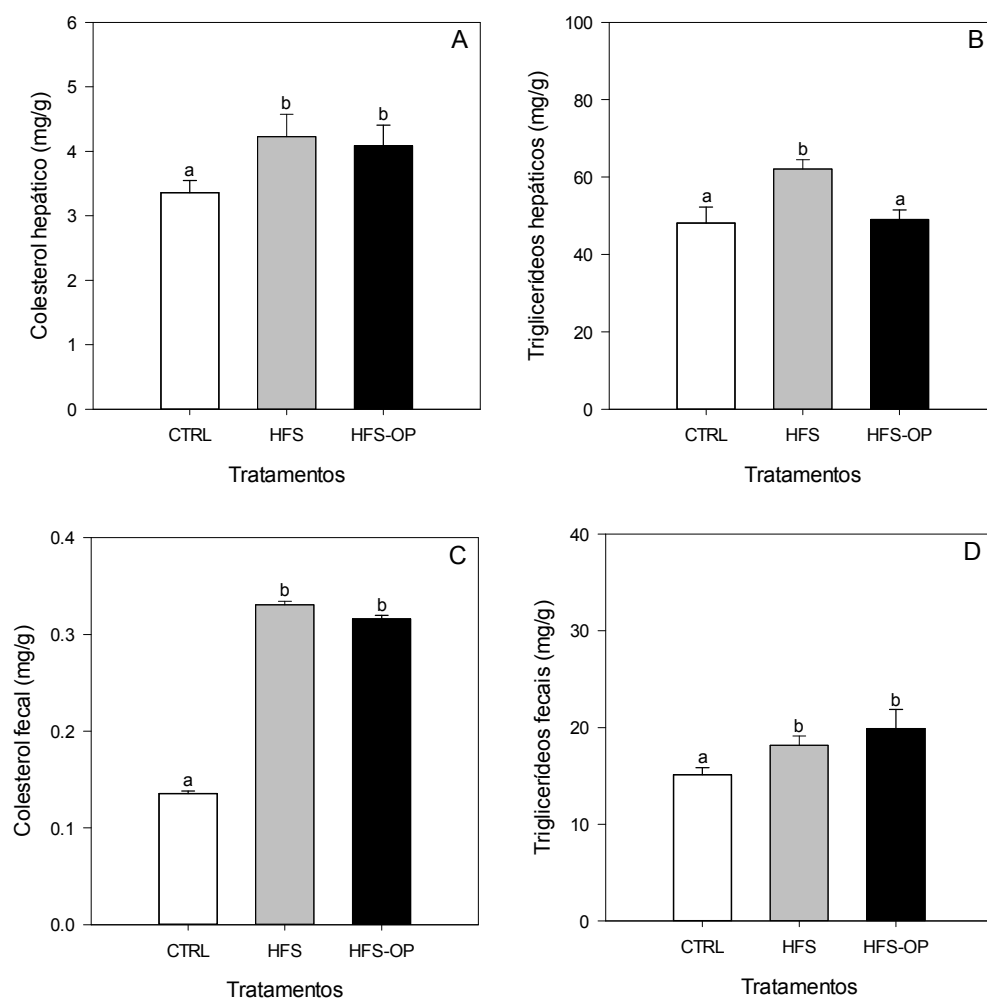


Figura 7 – Concentrações de colesterol e triglicerídeos hepáticos (A e B, respectivamente) e fecais (C e D, respectivamente) dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP=Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p < 0.05$.

De acordo com Tréguier et al. (2011), a dieta ocidental também está associada com uma maior deposição de colesterol no fígado e uma maior excreção, na tentativa de reduzir as concentrações circulantes. Isso ocorre porque além do aporte dietético de colesterol proveniente da banha de porco, o excesso de SFA está associado com a diminuição da atividade dos receptores de LDL-colesterol, acarretando a elevação das concentrações circulantes dessa fração (FERNANDEZ & WEST, 2005). Com exceção dos tecidos esteroideogênicos, que convertem o colesterol em hormônios esteroides, as células de um modo geral são incapazes de catabolizá-lo. O excesso de colesterol não esterificado é tóxico

para as células e, como mecanismo de defesa, o fígado atua como um dissipador catabólico, direcionando o excesso para a excreção biliar e fecal. Entretanto, esse mecanismo pode tornar-se insuficiente, fazendo com que haja deposição de colesterol no tecido hepático (CHUCHEL & RADER, 2006). Nesse caso, prevaleceram os efeitos deletérios da dieta ocidental, não havendo efeito diferencial da substituição da banha de porco por óleo de pequi.

Já para os TG, a menor deposição hepática no grupo HFS-OP em relação ao HFS ($p<0,05$) (Figura 7B) pode ser explicada, pelo menos em parte, pela menor deposição de gordura na região visceral ($p<0,05$) (Figura 4B). A menor deposição de gordura nessa região implica em uma menor taxa de lipólise, o que diminui as taxas de AGL na microcirculação portal, responsável por interligar a gordura visceral e o fígado (KIM, 2013). Uma menor concentração portal de AGL diminui a síntese hepática de TG, prevenindo o acúmulo local (ARNER, 2002).

De maneira complementar, nas análises histopatológicas do tecido hepático observou-se que o número médio de quadrantes por campos avaliados que apresentaram infiltração gordurosa foi semelhante entre HFS-OP e CTRL, sendo inferior a HFS ($p<0,05$) (Tabela 2). Outra característica importante observada foi o aspecto morfológico da infiltração (Figura 8). Para o grupo HFS, além do maior grau de comprometimento dos hepatócitos, a infiltração foi predominantemente do tipo macrovesicular (Figura 8B), enquanto que para os grupos HFS-OP e CTRL, a infiltração quando observada foi do tipo microvesicular (Figura 8C).

Tabela 2 – Número médio de quadrantes e classificação do grau de infiltração gordurosa em hepatócitos de ratos após 12 semanas de tratamento.

Tratamentos	Número médio de quadrantes com infiltração	Percentual de animais acometidos por grau de infiltração			
		I	II	III	IV
CTRL	$1,12^b \pm 0,15$	100%	0%	0%	0%
HFS	$3,56^a \pm 0,36$	0%	0%	66,66%	33,33%
HFS-OP	$1,52^b \pm 0,66$	63,63%	36,36%	0	0

Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta high fat/sucrose – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP=Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Médias seguidas por letras diferentes (coluna) diferem entre si pelo teste Tukey, $p<0,05$. O grau de infiltração gordurosa foi classificado de I a IV, sendo I $<25\%$, II entre 25 e 50%, III entre 50 e 75% e IV $>75\%$ (Tzeng et al., 2013).

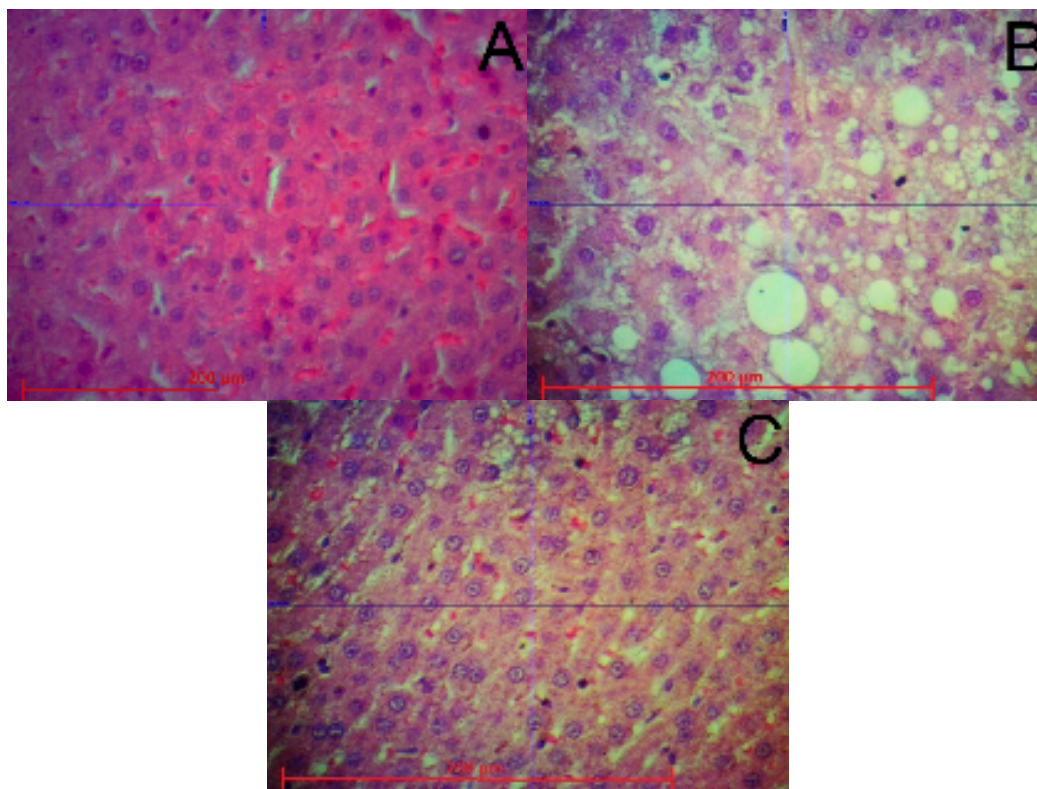


Figura 8 – Infiltração gordurosa no tecido hepático dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento - características morfológicas. A: Nenhuma infiltração; B: Infiltração gordurosa macrovesicular; C: Infiltração gordurosa microvesicular.

Podemos inferir que houve um efeito protetor do óleo de pequi no que se refere ao acúmulo de gordura na região visceral, o que impactou positivamente na sua deposição hepática, especialmente, triglicerídeos. Provavelmente, esse efeito está associado ao maior consumo de MUFA pelo grupo HFS-OP, que tem relação inversa com a deposição de gordura na região visceral e que, por sua vez, diminuiu a sobrecarga de substratos energéticos na microrregião porta-hepática (PANIAGUA et al., 2007; ARNER, 2002). Além disso, a presença dos carotenoides no óleo de pequi pode ter atenuado os efeitos do estresse oxidativo no desenvolvimento da esteatose hepática (ROSKAMS et al., 2003).

Homeostase da glicose

A dieta ocidental promoveu a elevação das concentrações séricas de glicose para o grupo HFS. A substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi atenuou esse efeito, sendo os valores observados para HFS-OP intermediários à HFS e CTRL ($p < 0,05$) (Figura 9A). Para as concentrações plasmáticas de insulina não houve diferença entre HFS-OP e HFS,

que foram superiores ao CTRL ($p<0,05$) (Figura 9B). Quando calculado o HOMA-IR, não houve diferença entre HFS-OP e HFS, que foram superiores ao CTRL ($p<0,05$) (Figura 9C).

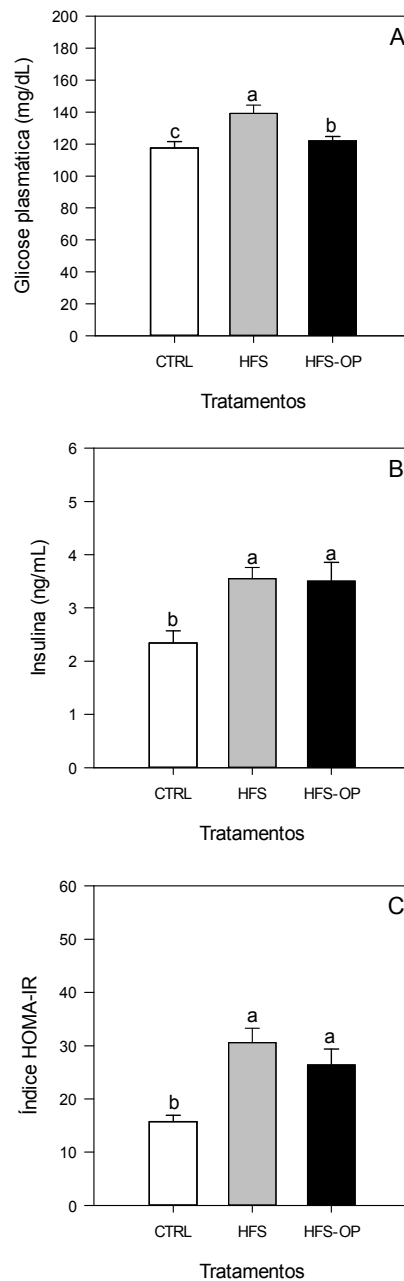


Figura 9 – Glicose sérica (A), insulina plasmática (B), Índice HOMA-IR (C) dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP= Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p<0.05$. (HOMA-IR=glicemia (mmol/l)*insulina (uU/ml) \div 22,5).

Os resultados obtidos para a homeostase da glicose (Figura 9) podem ser explicados, pelo menos em parte, pelo fato da dieta HFS-OP ter promovido uma menor deposição de gordura na região visceral e o menor acúmulo de TG no fígado em comparação à HFS (Figuras 4B e 7B). A menor deposição de gordura na região visceral evita que os TG se acumulem no tecido hepático, além de favorecer os efeitos da insulina sobre a produção hepática de glicose (ARNER, 2002). De fato, as concentrações de AGL cronicamente elevadas, provocadas pela dieta ocidental, têm sido associadas com o surgimento da resistência à insulina hepática e periférica (BODEN & SHULMAN, 2002), além de provocar disfunção nas células β -pancreáticas, podendo causar até mesmo a morte celular (KHARROUBI et al., 2004).

O processo de resistência à insulina apresenta duas fases. Na primeira fase, conhecida como pré-diabetes, a quantidade excessiva de insulina produzida pelas células β -pancreáticas é capaz de manter as concentrações normais ou quase normais de glicose sanguínea, apesar de um declínio contínuo da sensibilidade à insulina. Quando a hiperglicemia é progressiva e torna-se crônica, a ação da insulina é ainda mais dificultada, e as células β -pancreáticas tornam-se incapazes de produzir insulina suficiente para corrigir a hiperglicemia; é quando manifesta-se o DM2 (MESHKANI & ADELI, 2009; PETERSEN & SHULMAN, 2006).

No presente estudo, a hiperinsulinemia pôde ser observada de maneira semelhante nos grupos HFS-OP e HFS (Figura 9B). Contudo, os animais do grupo HFS-OP podem ser enquadrados na fase de pré-diabetes, uma vez que as concentrações séricas de glicose foram apenas um pouco superiores ao CTRL (diferença entre as médias de 4,56 mg/dl), e que os animais HFS estão em uma fase mais avançada no desenvolvimento do diabetes, pois as concentrações elevadas de insulina não foram capazes de conter a hiperglicemia. Para os grupos HFS e CTRL, a diferença entre as médias das concentrações de glicose foi de 21,62 mg/dl, quase cinco vezes maior que a diferença entre HFS-OP e CTRL. Esse resultado sugere que a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi retardou o processo de resistência à insulina nos animais HFS-OP.

Concentrações plasmáticas e razão leptina/adiponectina

As concentrações plasmáticas de leptina foram mais elevadas nos grupos tratados com as dietas ocidentais (HFS-OP e HFS) quando comparados ao CTRL ($p < 0,05$) (Figura 10A). Os níveis de adiponectina foram semelhantes entre HFS-OP e HFS, e estes foram inferiores

ao CTRL ($p<0,05$) (Figura 10B). Dessa forma, a razão leptina/adiponectina também não diferiu entre HFS-OP e HFS, sendo superior ao CTRL ($p<0,05$) (Figura 10C).

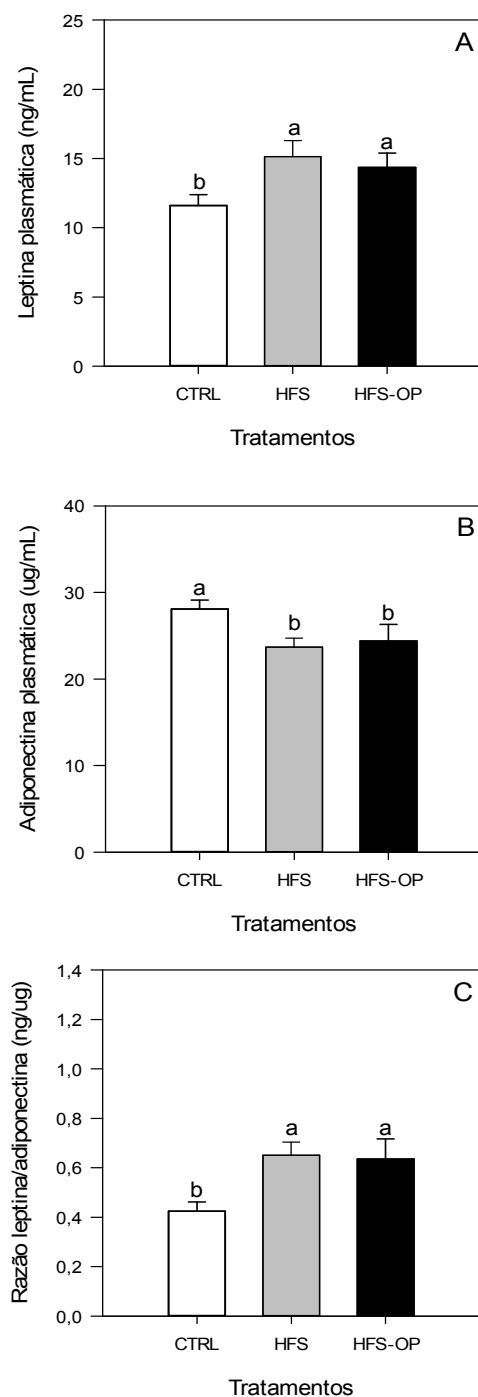


Figura 10 – Concentrações plasmáticas de leptina e adiponectina (A e B, respectivamente), razão leptina/adiponectina (C) dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP=Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p<0.05$.

As concentrações circulantes de leptina aumentam em proporção ao ganho de massa adiposa total, e sua secreção promove principalmente a redução do apetite e o aumento do gasto de energia (SATO et al., 2004). No entanto, sabe-se que acúmulo excessivo de tecido adiposo pode levar à hiperleptinemia e à resistência a leptina, de modo que os níveis elevados dessa adipocina já não desempenham seu papel na homeostase energética (KNIGHT et al., 2010).

Há que se considerar também neste caso, a ação conjunta da leptina e da insulina no sistema nervoso central. No hipotálamo existem receptores para insulina e leptina, e ambas atuam como indicadores periféricos do balanço energético, sendo a leptina um sinalizador de longo prazo e a insulina de curto prazo (GALE et al., 2004). A insulina atua como um modulador da ação adipostática da leptina (NISWENDER et al., 2004) e, assim como observado em tecidos periféricos, também no sistema nervoso central, a hiperinsulinemia e a hiperleptinemia podem ocasionar falhas, que podem ocorrer em nível de transporte através da barreira hemato-encefálica, bem como alterações nos receptores ou na transdução dos sinais (VELLOSO, 2006; AHIMA, 2005), prejudicando os efeitos fisiológicos desses dois hormônios no controle da homeostase energética.

No presente estudo, não foram observadas diferenças entre os grupos experimentais para a ingestão energética (Figura 3D), mas os pesos corporais finais dos animais HFS-OP e HFS foram superiores aos dos CTRL ($p < 0,05$) (Figura 3B), sugerindo que a hiperleptinemia e a hiperinsulinemia podem ter contribuído para o rompimento da homeostase energética nesses grupos, e que a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi não exerceu efeitos diferenciais, prevalecendo os efeitos deletérios da sobrecarga lipídica e de carboidratos simples.

Ao contrário da leptina, concentrações plasmáticas de adiponectina diminuídas são associadas com as DCM (LI et al., 2010). De modo particular, a adiponectinemia está fortemente associada à resistência à insulina (HOTTA et al., 2000). Essa relação baseia-se em sua função fisiológica no metabolismo energético, visto que a adiponectina estimula a oxidação de ácidos graxos e a captação de glicose pelo músculo esquelético, além de suprimir a produção hepática de glicose (YAMAUCHI et al., 2002).

Devido às características dessas adipocinas e sua relação com a insulina, a razão leptina/adiponectina é considerada como um marcador precoce de resistência à insulina (MIRZA et al., 2011). No presente estudo, não foram observadas diferenças entre HFS-OP e HFS para essas adipocinas ou para a razão leptina/adiponectina (Figura 10), sugerindo que a

substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi não exerceu um efeito diferencial sobre os efeitos esperados para a dieta ocidental. Contudo, há de se considerar que esses marcadores manifestam-se precocemente, e que o processo de resistência à insulina pode ter sido retardado no grupo HFS-OP (Figura 9).

5.3. Variáveis relacionadas à função cardíaca

O acúmulo de tecido adiposo induzido pela dieta ocidental é um fator que predispõe ou está associado ao desenvolvimento das DCM, dentre as quais estão a hipertensão e as doenças cardíacas (WILSSON et al., 2007). De acordo com a figura 11, podemos observar que a pressão arterial sistólica (PAS) e a frequência cardíaca (FC) aferidas na terceira semana de tratamento (Figuras 11A e 11B) não foram diferentes entre os grupos. Essas mesmas variáveis foram avaliadas na décima semana. Ao final do tratamento, a PAS (Figura 11C) e a FC (Figura 11D) foram semelhantes entre os grupos HFS-OP e HFS, e estes foram superiores ao grupo CTRL ($p < 0,05$).

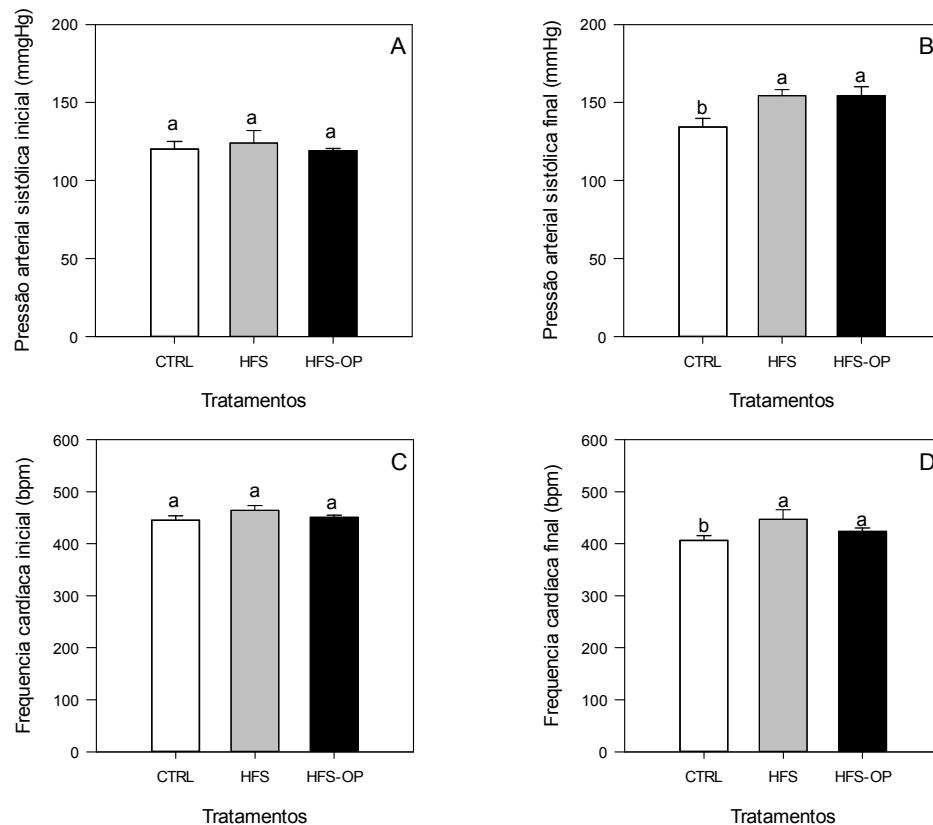


Figura 11 – Pressão arterial sistólica –mmHg (PAS) e frequência cardíaca (FC) inicial - 3ª semana de tratamento (A e C, respectivamente) e PAS e FC final - 10ª semana de tratamento (B e D, respectivamente) dos animais experimentais. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP= Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p < 0.05$.

No presente estudo, podemos observar que as dietas ocidentais (HFS e HFS-OP) favoreceram o aumento da pressão arterial, não havendo efeito diferencial da substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi (Figura 11B). De um modo geral, as dietas enriquecidas com ácido oleico são tidas como protetoras contra o desenvolvimento da hipertensão (FERRARA et al., 2000). Entretanto, também tem-se considerado que os efeitos benéficos dos MUFA podem ser perdidos quando a quantidade total de gordura da dieta está elevada (RASMUSSEN et al., 2006). De maneira complementar, tem sido demonstrado que a elevação do peso corporal está intimamente associada com a função de relaxamento do endotélio arterial (HEINONEN et al., 2014), o que suporta a ideia de que um dos mecanismos pelo qual a adiposidade promove a hipertensão, deve-se a um efeito de remodelamento das

grandes artérias, nas quais pode ocorrer endurecimento e espessamento (SCUTERI et al., 2012).

A FC também foi elevada na 10ª semana do tratamento para os animais que consumiram as dietas ocidentais (HFS e HFS-OP) em relação ao CTRL ($p < 0,05$) (Figura 11D). A elevação da FC tem sido vista como um fator independente de prognóstico negativo para DCM e comumente está associada à hipertensão (PALATINI, 2011). Nesse contexto, o aumento da FC pode ter sido uma resposta adaptativa à elevação da PAS, uma vez que esta promove um aumento na pós-carga ventricular e, conseqüentemente, pode desencadear a elevação da FC como um mecanismo compensatório (LAKATTA & LEVY, 2003). Por outro lado, a elevação da FC tem impacto direto sobre o estado da parede arterial, provavelmente por causa do estresse mecânico pulsátil, e também possivelmente envolvendo ações pró-inflamatórias que atuam sobre o endotélio vascular (FOX et al., 2007).

Não obstante isso, há ainda que se considerar as alterações neuroendócrinas provocadas pelo acúmulo de gordura, que podem desencadear uma hiperatividade simpática ou hipoatividade parassimpática (ROGOWSKI et al., 2009; SCHROEDER et al., 2003). Nesse contexto, a hiperinsulinemia observada nos animais HFS-OP e HFS (Figura 9) é um dos fatores que pode estar relacionado com a desregulação autonômica caracterizada por hiperatividade simpática e, por conseguinte, o aumento de FC (REAVEN, 2002). Essas alterações podem estar por trás desse aumento da FC de repouso e da PAS observados nos grupos HFS-OP e HFS.

Além das análises *in vivo*, a função cardíaca *ex vivo* foi também avaliada por meio do sistema de coração isolado de Langendorff, o qual permite uma avaliação na ausência de influências hormonais e neurais (SKRZYPIEC-SPRING et al., 2007).

De um modo geral, a dieta ocidental comprometeu a função cardíaca dos animais experimentais, promovendo uma redução na contratilidade (Figura 12A) e na eficiência do relaxamento cardíaco (Figura 12B) dos grupos HFS-OP e HFS quando comparados à CTRL ($p < 0,05$).

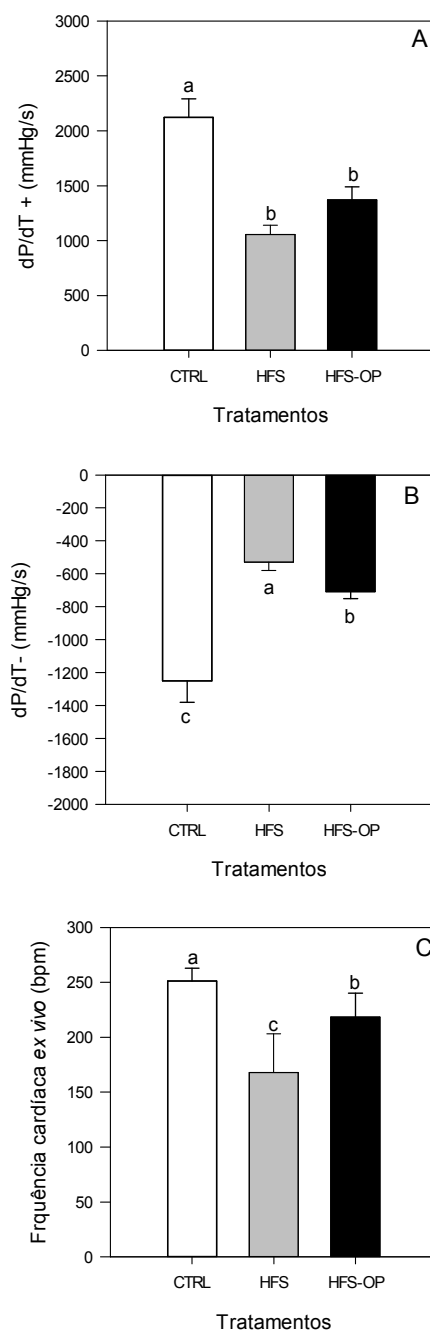


Figura 12: Função cardíaca basal pela técnica do coração isolado em sistema Langendorff - Índice de contratilidade +dP/dt (A), índice de relaxamento -dP/dt (B) cardíaco e frequência cardíaca *ex vivo* (C) dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP= Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p < 0.05$.

Os prejuízos à função cardíaca provocados pela dieta ocidental possivelmente estão relacionados a alterações em propriedades intrínsecas do miocárdio. A bradicardia observada em HFS-OP e HFS, em relação ao CTRL (Figura 12C), segundo a lei de Frank-Starling, deveria ser acompanhada por um aumento na contratilidade, e não uma redução, como foi observado (SAKS, 2006).

Sabe-se que, devido à alta demanda energética, o músculo cardíaco apresenta normalmente uma alta taxa de captação de glicose e principalmente de ácidos graxos para a produção de energia (STANLEY et al., 2005). Entretanto, uma alteração comum em decorrência do consumo da dieta ocidental é a elevação dos níveis circulantes de ácidos graxos, o que pode desencadear um aumento exacerbado na captação desse substrato pelo músculo cardíaco (GRUPTE et al., 2007). Essa alteração promove uma lipotoxicidade, que por sua vez, está relacionada com alterações na atividade de proteínas envolvidas no transiente de cálcio, o responsável primário pelo processo de contratilidade cardíaca (BERS, 2002).

Dessa forma, a redução da contratilidade (Figura 12A) nos animais HFS-OP e HFS pode estar relacionada a alterações na atividade dos canais de cálcio tipo L da membrana celular dos cardiomiócitos e em receptores de rianodina do retículo sarcoplasmático, uma vez que a lipotoxicidade cardíaca promove uma redução da atividade destas proteínas, prejudicando a liberação de cálcio pelo retículo sarcoplasmático durante a sístole e, consequentemente, reduzindo a contratilidade cardíaca (FAUCONNIER et al., 2007).

Assim, de maneira complementar, a redução da FC intrínseca (Figura 12C) em HFS-OP e HFS pode ser explicada pelo fato de que dietas ricas em gorduras deprimem a função cardíaca global (COLE et al., 2011) e, nesta situação, pode ser que ocorra também uma depressão da atividade marca-passo do nodo sinusal. Apesar de todas estas possibilidades, são necessários estudos mais aprofundados para avaliar estas possíveis alterações moleculares.

Embora a função cardíaca tenha sido prejudicada nos animais que consumiram a dieta ocidental, deve-se considerar o efeito diferencial da substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi, visto que houve uma atenuação dos danos em HFS-OP quando comparados a HFS. Uma das particularidades da dieta ocidental é a mudança no perfil de ácidos graxos. Além da alta ingestão de SFA, o excesso de carboidratos pode entrar em vias de lipogênese; os ácidos graxos sintetizados endogenamente podem ser SFA ou sofrerem ação de enzimas denominadas dessaturases, dando origem a MUFA. Contudo, a transcrição dessas enzimas não acompanha as taxas de lipogênese, promovendo um desbalanço na proporção de

SFA/MUFA. Essa alteração acarreta a substituição dos MUFA por SFA nos cardiomiócitos, o que também está associado com a disfunção contrátil do músculo cardíaco (HARMANCEY et al., 2010). Os resultados obtidos para a função cardíaca *ex vivo* (Figura 12) apontam que o óleo de pequi foi capaz de atenuar os efeitos deletérios da dieta ocidental, de forma que o maior aporte de MUFA da dieta HFS-OP pode ter favorecido sua incorporação nos cardiomiócitos, atenuando a disfunção pelo desbalanço SFA/MUFA.

5.4. Estado redox celular

O ganho de peso decorrente do consumo da dieta ocidental está relacionado com várias alterações metabólicas, dentre elas o estresse oxidativo (UZUN et al., 2004). O estresse oxidativo é tido como um mecanismo subjacente, podendo ser observado de maneira precoce na patogênese das diversas DCM (ROBERTS & SINDHU, 2009).

A peroxidação lipídica é um dos principais danos decorrentes do estresse oxidativo. Este fenômeno ocorre principalmente em fosfolípidios de membrana, o que pode alterar significativamente as propriedades físico-químicas das bicamadas lipídicas, como a flexibilidade, a fluidez e a permeabilidade, resultando em disfunção celular. Essas alterações prejudicam as funções de barreira, transporte e informação das membranas celulares, levando a perda de seletividade para entrada/saída de nutrientes e substâncias tóxicas à célula, facilitando lesões intracelulares e alterações no DNA (CATALÁ, 2013).

Foram observados níveis de peroxidação lipídica semelhantes entre os grupos HFS-OP e HFS no tecido hepático, e estes foram superiores ao CTRL ($p < 0,05$) (Figura 13A). Este resultado pode ser explicado, pelo menos em parte, pelo desbalanço energético provocado pela dieta ocidental (WOODS et al., 2004). O excesso de energia precisa ser dissipado e, devido ao papel metabólico central do fígado, ocorre nos hepatócitos um aumento significativo da β -oxidação e cetogênese, sugerindo que o fígado é um dissipador catabólico (MILAGRO et al., 2006).

De acordo com Zámbo et al. (2013), o acúmulo de ácidos graxos estimula a geração de ERO no fígado, devido ao aumento da β -oxidação e o consequente vazamento de elétrons da cadeia transportadora mitocondrial. Essa é uma das razões que tornam as membranas dos hepatócitos altamente susceptíveis à peroxidação. No caso da dieta HFS-OP, a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi não exerceu efeitos diferenciais, prevalecendo os efeitos oxidativos da sobrecarga lipídica.

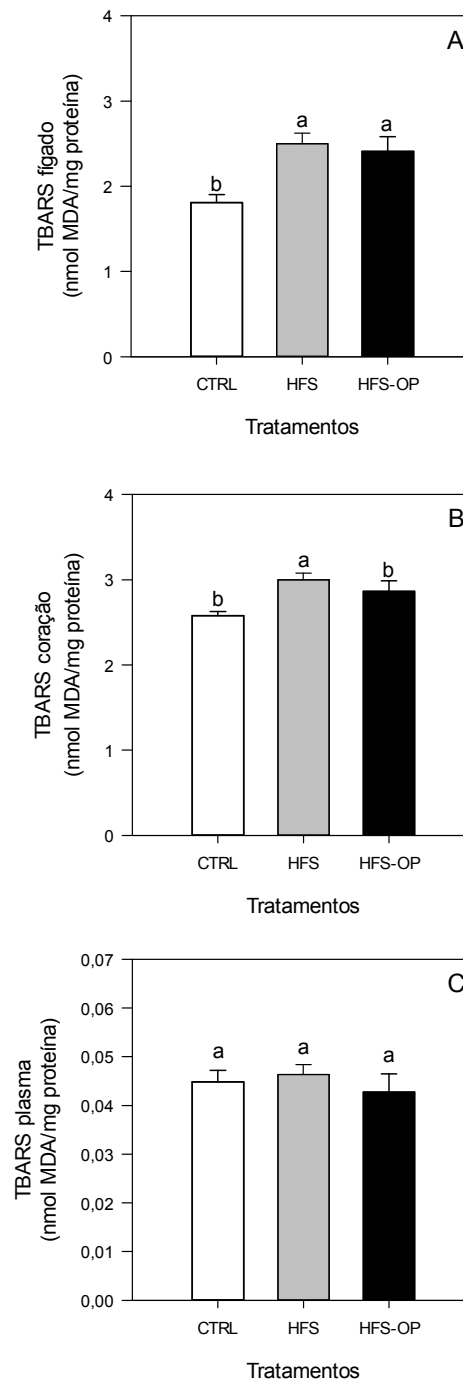


Figura 13: Níveis de peroxidação lipídica (concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS) no tecido hepático (A), cardíaco (B) e no plasma (C) dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP= Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p < 0.05$.

A elevação da produção de energia no tecido hepático tem por objetivo proteger o organismo da hiperlipemia sistêmica (KOVES et al., 2008). Embora a dieta HFS-OP contasse com uma maior oferta exógena de antioxidantes (carotenoides), seus efeitos protetores frente à peroxidação lipídica não foram observados. Esse resultado demonstra que a produção de ERO foi superior à capacidade antioxidante endógena e exógena somadas no tecido hepático (FORD et al, 2003).

De maneira interessante, quando os danos oxidativos foram avaliados no tecido cardíaco, observamos que os níveis de peroxidação lipídica foram inferiores no grupo HFS-OP quando comparados ao HFS ($p < 0,05$) e semelhantes ao CTRL (Figura 13B). Nota-se que, embora a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi não tenha sido capaz de prevenir os danos no tecido hepático (Figura 13A), o tecido cardíaco foi preservado.

Segundo Harmancey e colaboradores (2010), o desbalanço da razão SFA/MUFA provocado pela dieta ocidental prejudica a fluidez da membrana mitocondrial dos cardiomiócitos. Essa alteração afeta a função de proteínas de membrana, tais como enzimas, bombas iônicas e transportadores de elétrons, de forma que o estresse oxidativo está fortemente associado à disfunção cardiovascular (HEINONEN et al., 2014; PAMPLONA et al., 1998). Apesar da presença dos SFA e sacarose na dieta HFS-OP o aporte dietético de MUFA foi aumentado, o que interferiu positivamente na proporção SFA/MUFA em comparação à HFS. O resultado observado no tecido cardíaco reforça a ideia de que a dieta HFS-OP pode ter favorecido uma maior incorporação de MUFA nas membranas dos cardiomiócitos, o que exerceu um efeito protetor.

Além do alto conteúdo de ácido oleico, o óleo de pequi é também rico em carotenoides (TEIXEIRA et al., 2013; RIBEIRO et al., 2012). Devido a sua estrutura química, formada por um sistema de duplas ligações conjugadas, os carotenoides auxiliam no balanço redox, agindo sobretudo na captação da energia do oxigênio singlete, e dos radicais peroxil. Além de aumentar os níveis circulantes de antioxidantes, devido a sua característica lipofílica, os carotenoides podem ser incorporados nas membranas, exercendo um efeito protetor frente a produção excessiva ERO (STAHL & SEIS, 2005; TAPIERO et al., 2004). Esta incorporação de carotenoides na membrana pode ter ocorrido nos cardiomiócitos dos animais HFS-OP, o que, somado à presença dos MUFA, pode ter exercido o efeito protetor frente à peroxidação lipídica.

Quando medidos no plasma, os níveis de peroxidação lipídica não foram diferentes entre os grupos experimentais (Figura 13C). Este resultado pode ser atribuído à rápida

depuração das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma, o que dificulta a sua quantificação (FISHER-WELLMAN & BLOOMER, 2009).

Tomados os dados em conjunto, podemos inferir que a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi atenuou os danos às membranas lipídicas provocados pela dieta ocidental. Embora o tecido hepático tenha sido acometido de maneira semelhante entre os grupos HFS-OP e HFS (Figura 13A), a preservação do tecido cardíaco de HFS-OP (Figura 13B) sugere que os danos ficaram restritos ao fígado, devido a sua função metabólica central; contudo esses danos não atingiram a ordem sistêmica, como observado em HFS.

Dado que o estresse oxidativo é causado basicamente por falhas no sistema antioxidante endógeno ou redução da ingestão de antioxidantes naturais, advindos principalmente da dieta (GÜLÇIN, 2012), o próximo passo foi verificar a capacidade antioxidante total. A figura 14A mostra que no tecido hepático, a capacidade antioxidante total no grupo HFS-OP foi semelhante ao CTRL, sendo estes superiores ao grupo HFS ($p < 0,05$). Quando avaliada no tecido cardíaco, a capacidade antioxidante total do grupo HFS-OP foi semelhante a HFS, e estes foram inferiores ao CTRL ($p < 0,05$) (Figura 14B). No plasma foi observado o contrário, sendo os grupos HFS-OP e HFS semelhantes e superiores ao CTRL ($p < 0,05$) (Figura 14C).

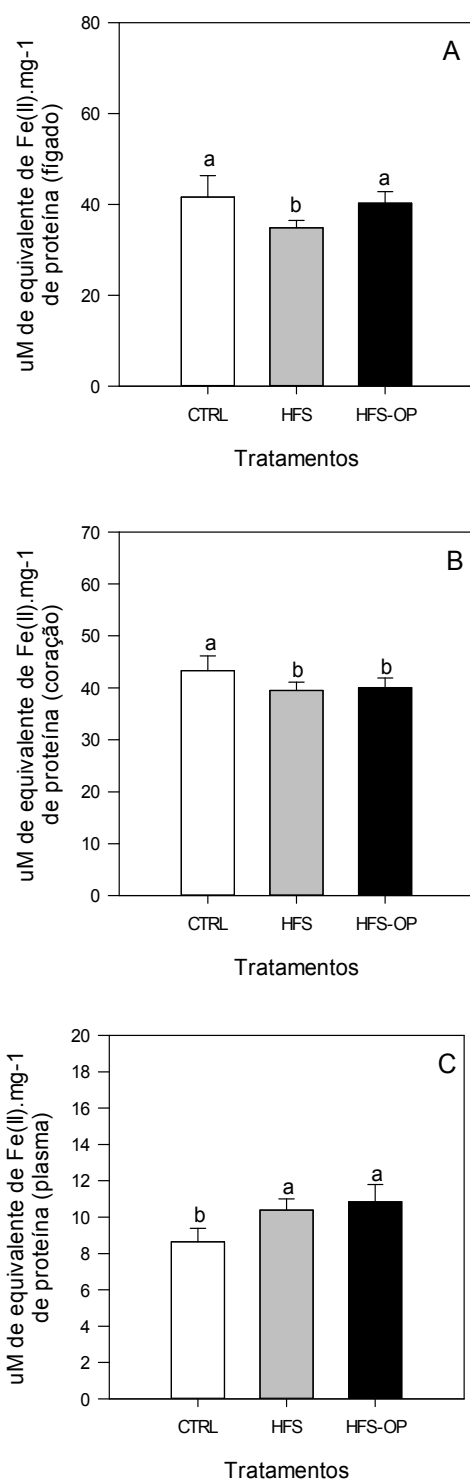


Figura 14: Capacidade antioxidante total (poder de redução do ferro – FRAP) no tecido hepático (A), cardíaco (B) e no plasma (C) dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP=Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p < 0,05$.

A dieta ocidental é capaz de elevar a produção de ERO a níveis que ultrapassam a capacidade antioxidante endógena. Além disso, o balanço redox nessa condição fica ainda mais prejudicado, uma vez que o consumo de antioxidantes dietéticos é reduzido (SVERDLOV et al., 2014; BALLAL et al., 2010; WILSON et al., 2007). Esse fato pode justificar a menor capacidade antioxidante observada para o grupo HFS no tecido hepático (Figura 14A). Nessa mesma perspectiva, a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi parece promover uma compensação no balanço redox, devido ao fortalecimento do sistema antioxidante com os carotenoides. Entretanto, essa maior capacidade antioxidante ainda não foi suficiente para inibir a peroxidação lipídica no tecido hepático para o grupo HFS-OP (Figura 13A).

No tecido cardíaco, embora a capacidade antioxidante não tenha sido aumentada para o grupo HFS-OP em relação ao HFS, os componentes do óleo do pequi foram capazes de preservar um pouco mais os lipídeos teciduais dos danos oxidativos, como visto na figura 13B. Esses dados reforçam a ideia de que, frente ao estresse metabólico, o fígado é sobrecarregado com o objetivo de proteger outros sistemas (ZÁMBÓ et al. 2013).

Quando avaliada no plasma, a capacidade antioxidante total foi elevada de forma semelhante para os grupos HFS e HFS-OP. Essa elevação pode ser vista como uma resposta fisiológica adaptativa, pois o aumento da produção de ERO pela dieta ocidental é um estímulo capaz de induzir a expressão de enzimas antioxidantes e outros mecanismos de defesa. A elevação dos níveis circulantes de antioxidantes tem por objetivo neutralizar as ERO antes que causem danos aos tecidos e ainda redistribuir os antioxidantes para os diversos tecidos do organismo, que encontram-se em estado de estresse metabólico (KARALIS et al., 2009; CALABRESE & BALDWIN, 2003).

Diante dos resultados anteriores, e considerando que o fígado é um órgão metabólico central, o próximo passo foi avaliar a atividade de enzimas antioxidantes nesse tecido. As enzimas antioxidantes são componentes endógenos do sistema de proteção contra as ERO. A maior parte do processo é resultante do trabalho das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e das glutatonas (LOBO et al., 2010).

Um importante mecanismo de homeostase redox baseia-se no aumento da síntese de enzimas antioxidantes mediada por cascatas de sinalização sensíveis às concentrações de ERO. Dessa forma, quando há um aumento na produção de ERO, este é acompanhado pelo aumento da síntese e atividade das enzimas antioxidantes. Entretanto, em determinadas condições, a produção de ERO está elevada de forma mais acentuada e persistente, o que pode

ocasionar alterações na transdução do sinal e na expressão de genes, impactando negativamente a atividade enzimática (DROGE, 2002).

Nessa perspectiva, observamos que a atividade da SOD hepática para o grupo HFS-OP foi superior aos grupos HFS e CTRL ($p < 0,05$), os quais não diferiram entre si (Figura 15A). Neste caso, podemos inferir que, para os animais HFS, os danos oxidativos extrapolaram a capacidade de resposta. Em contrapartida, os animais HFS-OP foram mais capazes de responder à excessiva produção de ERO provocada pela dieta ocidental, com o aumento da atividade da SOD.

Dentre os compostos antioxidantes presentes no óleo de pequi, é sabido que os carotenoides são capazes de sequestrar os radicais superóxido (STAHL & SEIS, 2005). Podemos então inferir que essa propriedade contribuiu para a redução do substrato destinado à enzima SOD no grupo HFS-OP em relação à HFS, o que paradoxalmente pode ter favorecido a maior atividade dessa enzima. Esse efeito pode ser explicado, ao menos em parte, pela relação existente entre o tempo e o aumento da concentração das ERO com as falhas na atividade enzimática (DROGE, 2002). Além disso, o radical hidroxila, formado a partir do peróxido de hidrogênio pela reação de Fenton, tem como característica principal não possuir um antioxidante endógeno. De acordo com Trevithick-Sutton et al. (2006), os carotenoides também têm a capacidade de neutralizar esse radical, auxiliando de forma ainda mais peculiar no sistema antioxidante. Estas características favoreceram o grupo HFS-OP, à medida que impediram que o estresse atingisse níveis aos quais o sistema antioxidante não fosse mais capaz de responder, como sugerido para HFS.

No caso da glutathione peroxidase (GPx) hepática, novamente o grupo HFS-OP apresentou maior atividade, o grupo HFS foi intermediário e uma menor atividade foi observada para o grupo CTRL ($p < 0,05$) (Figura 15C). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) formado na reação catalisada pela SOD precisa ser neutralizado. A desintoxicação mitocondrial do H_2O_2 ocorre principalmente por meio do sistema de glutathionas e, no fígado, as GPx catalizam principalmente a neutralização do H_2O_2 e a redução de hidroperóxidos em membranas, evitando a sua oxidação (RIBAS et al., 2014; BRIGELIUS-FLOHE & MAIORINO, 2013).

Possivelmente, os resultados obtidos para a GPx no tecido hepático seguem um padrão semelhante aos da SOD. Pode-se dizer que a menor atividade da enzima vista no grupo CTRL é resultante do estado de normalidade, e que a reduzida atividade observada no grupo HFS com relação à HFS-OP deve-se às alterações na síntese e atividade das enzimas,

decorrentes do estresse muito acima das capacidades antioxidantes, o que acarreta falhas no sistema (DROGE, 2002).

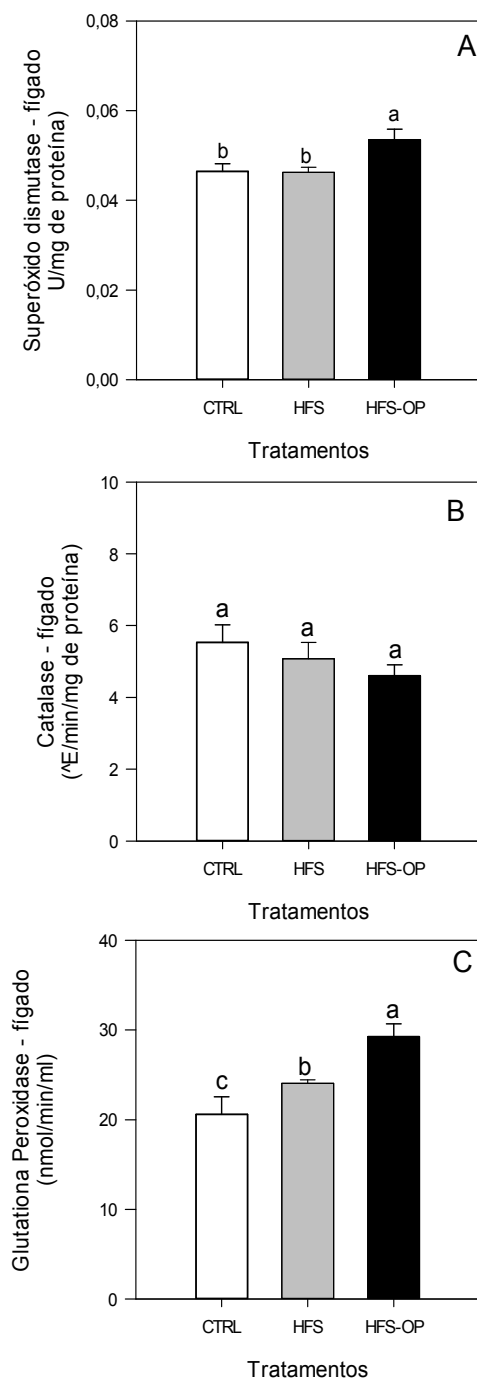


Figura 15: Atividade das enzimas superóxido dismutase – SOD (A), catalase – CAT (B) e glutathiona peroxidase – GPx (C) no tecido hepático dos animais experimentais após 12 semanas de tratamento. Tratamentos: CTRL=Dieta controle; HFS=Dieta *high fat/sucrose* – rica em ácidos graxos saturados (banha de porco) e sacarose; HFS-OP= Dieta HFS com banha de porco parcialmente substituída por óleo de pequi (rico em ácidos graxos monoinsaturados e carotenoides). Valores expressos em média \pm erro padrão. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey, $p < 0.05$.

Para a atividade da CAT, não foram observadas diferenças entre os grupos (Figura 15B). O aumento da atividade da enzima CAT é observado em algumas condições, como a inflamação, hiperoxia ou quimioterapia. Nessas condições, a maior parte da neutralização do H_2O_2 produzido ocorre por ação da GPx presente no citosol e principalmente pela CAT associada aos peroxissomos (SALVI et al., 2007). Quando a produção de ERO é decorrente da produção de energia, existe uma baixa correlação com o aumento da atividade da CAT, como foi sugerido por Yang et al. (2000). Esses pesquisadores observaram que, em camundongos obesos, o aumento da atividade da CAT no tecido hepático deve-se a um vazamento do H_2O_2 da mitocôndria para o citosol; dessa forma, uma maior atividade da CAT está relacionada a desintoxicação realizada não na mitocôndria, mas nos peroxissomos.

Nesse sentido, o resultado obtido para a atividade da CAT no tecido hepático pode ser explicado pela alta atividade da GPx. Uma vez que os tratamentos em questão são dietas, em primeira instância, a atividade enzimática está correlacionada com a produção de ERO decorrente da produção de energia, realizada na matriz mitocondrial e o vazamento do H_2O_2 para o citosol pode ter sido neutralizado pelo sistema de glutatona ou ainda pode não ter sequer ocorrido.

6. RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS E CONCLUSÃO

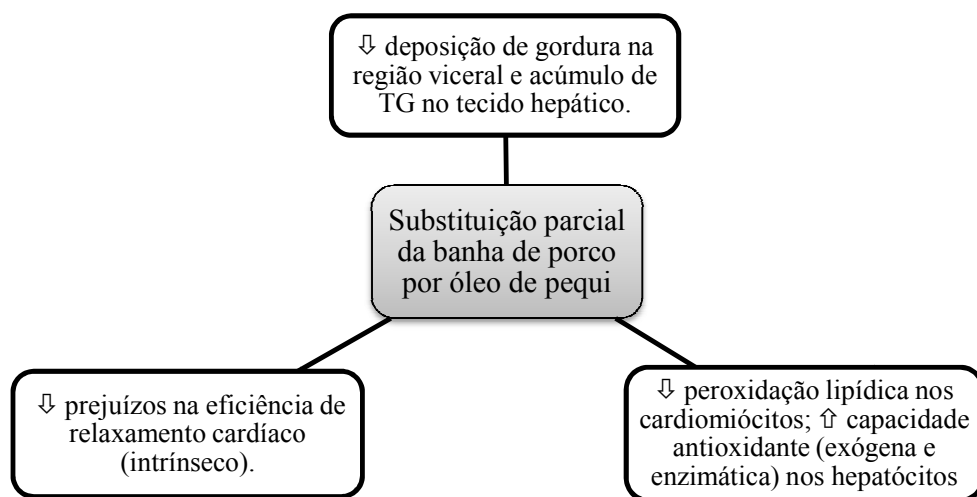


Figura 16: Principais resultados obtidos, de acordo com os objetivos específicos: (1) metabolismo; (2) função cardíaca; (3) estado redox celular de ratos.

Assim, podemos inferir que a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi atenuou alguns efeitos deletérios da dieta ocidental sobre o metabolismo lipídico, a função cardíaca e o estado redox celular de ratos.

7. REFERÊNCIAS

- AGUILAR, E. C.; et al. Paradoxical effect of a pequi oil-rich diet on the development of atherosclerosis: balance between antioxidant and hyperlipidemic properties. **Braz J Med Biol Res.**, v.45, p. 601-609, 2012.
- AHIMA, R. S. Central actions of adipocyte hormones. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 16, n. 7, p. 307-313, 2005.
- AHN, J. H.; et al. Protective Effects of Oleic Acid Against Palmitic Acid-Induced Apoptosis in Pancreatic AR42J Cells and Its Mechanisms. **J. Physiol Pharmacol.**, Korean, v. 17, p. 43-50, 2013.
- ALMEIDA, S. P.; et al. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: **Embrapa-CPAC**, p. 464, 1998.
- AMARAL, L. F.; et al. Caryocar brasiliense supercritical CO₂ extract possesses antimicrobial and antioxidant properties useful for personal care products. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, n. 1, p. 73, 2014.
- AMES, B. N. The metabolic tune-up: metabolic harmony and disease prevention. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 5, p. 1544S-1548S, 2003.
- ARNER, P. Insulin resistance in type 2 diabetes: role of fatty acids. **Diabetes/metabolism research and reviews**, v. 18, n. S2, p. S5-S9, 2002.
- AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.117, p. 385-396, 2004.
- BALLAL, K. et al. Obesogenic high fat western diet induces oxidative stress and apoptosis in rat heart. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 344, n. 1-2, p. 221-230, 2010.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**, v. 29, n. 1, p. 113, 2006.
- BAYS, H. E. et al. Pathogenic potential of adipose tissue and metabolic consequences of adipocyte hypertrophy and increased visceral adiposity. **Expert Rev. Cardiovasc. Ther.**, v. 6, n. 3, p. 343-368, 2008.
- BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.
- BERS, D. M. Sarcoplasmic reticulum Ca release in intact ventricular myocytes. **Frontiers in bioscience: a journal and virtual library**, v. 7, p. d1697-711, 2002.
- BHUPATHIRAJU, S. N.; TUCKER, K. L. Coronary heart disease prevention: nutrients, foods, and dietary patterns. **Clinica Chimica Acta**, v. 412, n. 17, p. 1493-1514, 2011.

- BODEN, G.; SHULMAN, G. I. Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. **European journal of clinical investigation**, v. 32, n. s3, p. 14-23, 2002.
- BONDIA-PONS, I.; RYAN, L.; MARTINEZ, J. A. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. **Journal of physiology and biochemistry**, v. 68, n. 4, p. 701-711, 2012.
- BOUSTANY, C. M. et al. Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 287, n. 4, p. R943-R949, 2004.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248-54, 1976
- BRIAND, F. et al. High-fat and fructose intake induces insulin resistance, dyslipidemia, and liver steatosis and alters in vivo macrophage-to-feces reverse cholesterol transport in hamsters. **The Journal of nutrition**, v. 142, n. 4, p. 704-709, 2012.
- BRIGELIUS-FLOHÉ, R.; MAIORINO, M. Glutathione peroxidases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1830, n. 5, p. 3289-3303, 2013.
- BUCHHOLZ, A. C.; SCHOELLER, D. A. Is a calorie a calorie? The American Journal of. **Clinical Nutrition**, v. 79, p.899-906, 2004.
- BUETTNER, R.; SCHÖLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L. C. High-fat diets: Modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity*, n. 15, v. 4, p. 798-808, 2007.
- CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Hormesis: the dose-response revolution. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 43, n. 1, p. 175-197, 2003.
- CARVALHO, P. E. R. Espécies Arbóreas Brasileiras. Brasília: Embrapa informação tecnológica; Colombo, PR: **Embrapa florestas**, p. 1040, 2003.
- CATALÁ, A. Five Decades with Polyunsaturated Fatty Acids: Chemical Synthesis, Enzymatic Formation, Lipid Peroxidation and Its Biological Effects. **Journal of lipids**, v. 2013, 2013.
- CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G. de; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441, 2007.
- CHESS, D. J.; STANLEY, W. C. Role of diet and fuel overabundance in the development and progression of heart failure. **Cardiovascular research**, 2008.
- COLE, M. A. et al. A high fat diet increases mitochondrial fatty acid oxidation and uncoupling to decrease efficiency in rat heart. **Basic research in cardiology**, v. 106, n. 3, p. 447-457, 2011.
- CORDAIN, L. et al. Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. **The American journal of clinical nutrition**, v. 81, n. 2, p. 341-354, 2005.

CROWE, K. M.; FRANCIS, C. Position of the academy of nutrition and dietetics: functional foods. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 113, n. 8, p. 1096-1103, 2013.

CUCHEL, M.; RADER, D. J. Macrophage Reverse Cholesterol Transport Key to the Regression of Atherosclerosis? **Circulation**, v. 113, n. 21, p. 2548-2555, 2006.

DRÖGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiological reviews**, v. 82, n. 1, p. 47-95, 2002.

FAUCONNIER, J. et al. Effects of Palmitate on Ca²⁺ Handling in Adult Control and ob/ob Cardiomyocytes Impact of Mitochondrial Reactive Oxygen Species. **Diabetes**, v. 56, n. 4, p. 1136-1142, 2007.

FERNANDEZ, M. L.; WEST, K. L. Mechanisms by which Dietary Fatty Acids Modulate Plasma Lipids¹. **The Journal of nutrition**, v. 135, n. 9, p. 2075-2078, 2005.

FERRARA, L. A. et al. Olive oil and reduced need for antihypertensive medications. **Archives of Internal Medicine**, v. 160, n. 6, p. 837-842, 2000.

FINUCANE, F. M.; et al. Correlation of the leptin: adiponectin ratio with measures of insulin resistance in non-diabetic individuals. **Diabetologia**, v. 52, n. 11, p. 2345-2349, 2009.

FISHER-WELLMAN, K.; BLOOMER, R. J. Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. **Dynamic Medicine**, v. 8, n. 1, p. 1, 2009.

FOLCH, J.; LESS, M.; SLOANE-STANLEY, G.H.A. Simple method for isolation and purification of total lipids from animals tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 407-411, 1957

FORD, E. S.; et al. The metabolic syndrome and antioxidant concentrations findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Diabetes**, v. 52, n. 9, p. 2346-2352, 2003.

FOX, K. et al. Resting heart rate in cardiovascular disease. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 50, n. 9, p. 823-830, 2007.

FUNG, T. T.; et al. Mediterranean diet and incidence of and mortality from coronary heart disease and stroke in women. **Circulation**, v. 119, n. 8, p. 1093-1100, 2009.

GALE, S. M.; CASTRACANE, V. D.; MANTZOROS, C. S. Energy homeostasis, obesity and eating disorders: recent advances in endocrinology. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 2, p. 295-298, 2004.

GILLINGHAM, L. G.; HARRIS-JANZ, S.; JONES, P. J. H. Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors. **Lipids**, v. 46, n. 3, p. 209-228, 2011.

GREENBERG, A. S.; OBIN, M. S. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. **The American journal of clinical nutrition**, v. 83, n. 2, p. 461S-465S, 2006.

GRUNDY, S. M. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2595-2600, 2004.

GÜLÇİN, İ. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of toxicology**, v. 86, n. 3, p. 345-391, 2012.

GUPTE, R. S. et al. Upregulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase and NAD (P) H oxidase activity increases oxidative stress in failing human heart. **Journal of cardiac failure**, v. 13, n. 6, p. 497-506, 2007.

HARMANCEY, R et al. Western diet changes cardiac acyl-CoA composition in obese rats: a potential role for hepatic lipogenesis. **Journal of lipid research**, v. 51, n. 6, p. 1380-1393, 2010.

HEINONEN, I. et al. The effects of equal caloric high fat and western diet on metabolic syndrome, oxidative stress and vascular endothelial function in mice. **Acta Physiologica**, 2014.

HOTTA, K. et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 20, n. 6, p. 1595-1599, 2000.

HOZAWA, A. et al. Circulating carotenoid concentrations and incident hypertension: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. **Journal of hypertension**, v. 27, n. 2, p. 237, 2009.

IBRAHIM, M. M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. **Obesity reviews**, v. 11, n. 1, p. 11-18, 2010.

JIMÉNEZ-COLMENERO, F.; CARBALLO, J.; COFRADES, S. Healthier meat and meat products: their role as functional foods. **Meat science**, v. 59, n. 1, p. 5-13, 2001.

KARALIS, K. P. et al. Mechanisms of obesity and related pathology: linking immune responses to metabolic stress. **FEBS journal**, v. 276, n. 20, p. 5747-5754, 2009.

KARELIS, A. D. et al. Metabolic and body composition factors in subgroups of obesity: what do we know? **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2569-2575, 2004.

KASTORINI, C. M.; et al. The effect of mediterranean diet on metabolic syndrome and its componentsa meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 57, n. 11, p. 1299-1313, 2011.

KHARROUBI, I. et al. Free fatty acids and cytokines induce pancreatic β -cell apoptosis by different mechanisms: role of nuclear factor- κ B and endoplasmic reticulum stress. **Endocrinology**, v. 145, n. 11, p. 5087-5096, 2004.

KIEN, C. L.; et al. Dietary intake of palmitate and oleate has broad impact on systemic and tissue lipid profiles in humans. **The American journal of clinical nutrition**, v. 99, n. 3, p. 436-445, 2014.

- KIM, S. P. Mechanisms underlying restoration of hepatic insulin sensitivity with CB1 antagonism in the obese dog model. **Adipocyte**, v. 2, n. 1, p. 47-49, 2013.
- KNIGHT, Z. A.; et al. Hyperleptinemia is required for the development of leptin resistance. **PloS one**, v. 5, n. 6, p. e11376, 2010.
- KOVES, T. R. et al. Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance. **Cell metabolism**, v. 7, n. 1, p. 45-56, 2008.
- LAKATTA, E. G.; LEVY, D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises part ii: the aging heart in health: links to heart disease. **Circulation**, v. 107, n. 2, p. 346-354, 2003.
- LAPOINTE, A.; COUILLARD, C.; LEMIEUX, S. Effects of dietary factors on oxidation of low-density lipoprotein particles. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 17, n. 10, p. 645-658, 2006.
- LEAMY, A. K.; EGNATCHIK, R. A.; YOUNG, J. D. Molecular mechanisms and the role of saturated fatty acids in the progression of non-alcoholic fatty liver disease. **Progress in lipid research**, v. 52, n. 1, p. 165-174, 2013.
- LI, S.; et al. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Obesity and metabolism**, n. 3, p. 57-58, 2010.
- LIMA, A.; et al. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (Caryocar brasiliense, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695-698, 2007.
- LIU, S.; et al. A prospective study of dietary glycemic load, carbohydrate intake, and risk of coronary heart disease in US women. **The American journal of clinical nutrition**, v. 71, n. 6, p. 1455-1461, 2000.
- LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy reviews**, v. 4, n. 8, p. 118, 2010.
- LOPEZ-HUERTAS, E. Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. **Pharmacological Research**, v. 61, n. 3, p. 200-207, 2010.
- LOTTENBERG, A. M. P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 5, p. 595-607, 2009.
- MANRIQUE, C.; et al. Hypertension and the cardiometabolic syndrome. **The Journal of Clinical Hypertension**, v. 7, n. 8, p. 471-476, 2005.
- MARIATH, A. B.; et al. Obesidade e fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis entre usuários de unidade de alimentação e nutrição. **Cad saúde pública**, v. 23, n. 4, p. 897-905, 2007.

MARKLUND, S.; MARKLUND G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. **European Journal of Biochemistry**, v. 47, n. 3, p. 469-474, 1974.

MATTHEWS, D.R.; et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v. 28, n. 7, p. 412- 419, 1985.

MENTE, A.; et al. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. **Archives of internal medicine**, v. 169, n. 7, p. 659-669, 2009.

MESHKANI, R.; ADELI, K. Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease. **Clinical biochemistry**, v. 42, n. 13, p. 1331-1346, 2009.

MILAGRO, F. I.; CAMPIÓN, J.; MARTÍNEZ, J. A. Weight Gain Induced by High-Fat Feeding Involves Increased Liver Oxidative Stress. **Obesity**, v. 14, n. 7, p. 1118-1123, 2006.

MILLER, T. A.; et al. Oleate prevents palmitate-induced cytotoxic stress in cardiac myocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 336, p. 309–315, 2005.

MIRANDA-VILELA, A. L. et al. Dextran-functionalized magnetic fluid mediating magnetohyperthermia combined with preventive antioxidant pequi-oil supplementation: potential use against cancer. **Journal of biomedical nanotechnology**, v. 9, n. 7, p. 1261-1271, 2013.

MIRANDA-VILELA, A. L. et al. Dietary carotenoid-rich oil supplementation improves exercise-induced anisocytosis in runners: influences of haptoglobin, MnSOD (Val9Ala), CAT (21A/T) and GPX1 (Pro198Leu) gene polymorphisms in dilutional pseudoanemia ("sports anemia"). **Genetics and molecular biology**, v. 33, n. 2, p. 359-367, 2010.

MIRANDA-VILELA, A. L. et al. Dietary carotenoid-rich pequi oil reduces plasma lipid peroxidation and DNA damage in runners and evidence for an association with MnSOD genetic variant -Val9Ala. **Nutrition Research**. v. 29, n. 12, p. 850-858, 2009b.

MIRANDA-VILELA, A. L. et al. Oil rich in carotenoids instead of vitamins C and E as a better option to reduce doxorubicin-induced damage to normal cells of Ehrlich tumor-bearing mice: hematological, toxicological and histopathological evaluations. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 25, n. 11, p. 1161-1176, 2014

MIRANDA-VILELA, A. L. et al. The protective effects of nutritional antioxidant therapy on Ehrlich solid tumor-bearing mice depend on the type of antioxidant therapy chosen: histology, genotoxicity and hematology evaluations. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 22, n. 11, p. 1091-1098, 2011a.

MIRANDA-VILELA, A. L.; et al. Genetic polymorphisms influence runners' responses to the dietary ingestion of antioxidant supplementation based on pequi oil (Caryocar brasiliense Camb.): a before-after study. **Genes Nutrition**, v. 6, p. 369–395, 2011b.

MIRANDA-VILELA, A. L.; et al. Pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil reduces exercise-induced inflammatory markers and blood pressure of male and female runners. **Nutrition Research**, v. 29, p. 850–858, 2009a.

MIRANDA-VILELA, A. L.; RESCK, I. S.; GRISOLIA, K. C. Antigenotoxic activity and antioxidant properties of organic and aqueous extracts of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 4, p. 956-963, 2008.

MIRZA, S.; et al. Adiponectin/leptin ratio and metabolic syndrome in a Mexican American population. **Clinical and investigative medicine. Médecine clinique et expérimentale**, v. 34, n. 5, p. E290, 2011.

MORAIS, M. L.; et al. Determination of antioxidant potential in vitro of brazilian Cerrado fruits. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 355-360, 2013.

MUOIO, D. M.; NEWGARD, C. B. Obesity-related derangements in metabolic regulation. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 75, p. 367-401, 2006.

MURAKAMI, A. et al. Modifying effects of carotenoids on superoxide and nitric oxide generation from stimulated leukocytes. **Cancer letters**, v. 149, n. 1, p. 115-123, 2000.

NELSON, D.P.; KIESOW, L.A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25°C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). **Analytical Biochemistry**, v. 49, p. 474-478, Oct. 1972.

NILSSON, C.; et al. Laboratory animals as surrogate models of human obesity. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 33, n. 2, p. 173-181, 2012.

NISWENDER, K. D.; BASKIN, D. G.; SCHWARTZ, M. W. Insulin and its evolving partnership with leptin in the hypothalamic control of energy homeostasis. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 15, n. 8, p. 362-369, 2004.

NOVELLI, E. L. B.; et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory animals**, v. 41, n. 1, p. 111-119, 2007.

ODDY, W. H.; et al. The Western dietary pattern is prospectively associated with nonalcoholic fatty liver disease in adolescence. **The American journal of gastroenterology**, v. 108, n. 5, p. 778-785, 2013.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, p. 351-358, Jun. 1979

OLIVEIRA, L. G. Efeitos da ingestão de óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) associada ao exercício físico aeróbio regular no crescimento e em variáveis metabólicas e cardiovasculares de ratos. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2014.

OLIVEIRA, L. M. D.; et al. Endothelium-dependent vasorelaxant effect of butanolic fraction from *Caryocar brasiliense* Camb. leaves in rat thoracic aorta. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.

OLIVEIRA, M. N. S.; et al. Estádio de maturação dos frutos e fatores relacionados aos aspectos nutritivos e de textura da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Rev Bras Frutic**, v. 28p. 380-6, 2006.

OWEN, R.W.; et al. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. **Food Chem Toxicol.**, v. 38, p. 647-659, 2000.

PALATINI, P. Role of elevated heart rate in the development of cardiovascular disease in hypertension. **Hypertension**, v. 58, n. 5, p. 745-750, 2011.

PAMPLONA, R. et al. Mitochondrial membrane peroxidizability index is inversely related to maximum life span in mammals. **Journal of lipid research**, v. 39, n. 10, p. 1989-1994, 1998.

PANIAGUA, J. A. et al. Monounsaturated fat-rich diet prevents central body fat distribution and decreases postprandial adiponectin expression induced by a carbohydrate-rich diet in insulin-resistant subjects. **Diabetes care**, v. 30, n. 7, p. 1717-1723, 2007.

PATTERSON, C. M.; LEVIN, B. E. Role of exercise in the central regulation of energy homeostasis and in the prevention of obesity. **Neuroendocrinology**, v. 87, n. 2, p. 65-70, 2007.

PEREIRA, A.V.; et al. **Enxertia de mudas de pequi**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. 2002. 25p. (Documentos, 66).

PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. Etiology of insulin resistance. **The American journal of medicine**, v. 119, n. 5, p. S10-S16, 2006.

PIERS, L. S.; et al. Substitution of saturated with monounsaturated fat in a 4-week diet affects body weight and composition of overweight and obese men. **British Journal of Nutrition**, v. 90, n. 03, p. 717-727, 2003.

POIRIER P.; et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. **Circulation**, v. 113, p. 898–918, 2006.

POZO, O. V. C. O pequi (*Caryocar brasiliense*): uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no norte de Minas Gerais. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, p. 100, 1997.

RASMUSSEN, B. M. et al. Effects of dietary saturated, monounsaturated, and n-3 fatty acids on blood pressure in healthy subjects. **Am J Clin Nutr.**, v. 83, p. 221-226, 2006.

REAVEN, G. Metabolic syndrome pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. **Circulation**, v. 106, n. 3, p. 286-288, 2002.

REEVES, P.G., NIELSEN, F.H., FAHEY, G.C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **The Journal of Nutrition**, , 123, v. 1, p. 1939-1951, 1993.

- RIBAS, V.; GARCIA-RUIZ, C.; FERNANDEZ-CHECA, J. C. Glutathione and Mitochondria. **Experimental Pharmacology and Drug Discovery**, p. 0.
- RIBEIRO, I. F. et al. The Influence of Erythropoietin (EPO T→G) and α -Actinin-3 (ACTN3 R577X) Polymorphisms on Runners' Responses to the Dietary Ingestion of Antioxidant Supplementation Based on Pequi Oil (Caryocar brasiliense Camb.): A Before-After Study. **Journal of nutrigenetics and nutrigenomics**, v. 6, n. 6, p. 283-304, 2014.
- RIBEIRO, M. C.; et al. Influence of the extraction method and storage time on the physicochemical properties and carotenoid levels of pequi (Caryocar brasiliense Camb.) oil. **Food Science and Technology**, v. 32, n. 2, p. 386-392, 2012.
- RICCHI, M.; et al. Differential effect of oleic and palmitic acid on lipid accumulation and apoptosis in cultured hepatocytes. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 24, p. 830–840, 2009.
- RICCIONI, G. et al. Lycopene and preclinical carotid atherosclerosis. **J Biol Regul Homeost Agents**, v. 25, n. 3, p. 435-441, 2011.
- ROBERTS, C. K.; SINDHU, K. K. Oxidative stress and metabolic syndrome. **Life sciences**, v. 84, n. 21, p. 705-712, 2009.
- ROESLER, R.; et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.
- ROGOWSKI, O. et al. Elevated resting heart rate is associated with the metabolic syndrome. **Cardiovasc Diabetol**, v. 8, n. 55, p. 327-331, 2009.
- ROSKAMS T, et al. Oxidative stress and oval cell accumulation in mice and humans with alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. **Am. J. Pathol.** v. 163, p. 1301–1311, 2003.
- SALES-CAMPOS, H.; et al. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 13, n. 2, p. 201-210, 2013.
- SAKS, Valdur et al. Cardiac system bioenergetics: metabolic basis of the Frank-Starling law. **The Journal of physiology**, v. 571, n. 2, p. 253-273, 2006.
- SALVI, M. et al. Catalase takes part in rat liver mitochondria oxidative stress defense. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 33, p. 24407-24415, 2007.
- SANDERS, T. A. B.; et al. Palmitic acid in the sn-2 position of triacylglycerols acutely influences postprandial lipid metabolism. **The American journal of clinical nutrition**, v. 94, n. 6, p. 1433-1441, 2011.
- SATOH, N.; et al. Leptin-to-adiponectin ratio as a potential atherogenic index in obese type 2 diabetic patients. **Diabetes care**, v. 27, n. 10, p. 2488-2490, 2004.
- SCHEFFEL, R. S.; et al. Prevalência de complicações micro e macrovasculares e de seus fatores de risco em pacientes com DM tipo 2 em atendimento ambulatorial. **Rev Assoc Med Bras.** v. 50, n. 3, p. 263-7, 2004.

- SCHROEDER, E. B. et al. Hypertension, blood pressure, and heart rate variability the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. **Hypertension**, v. 42, n. 6, p. 1106-1111, 2003.
- SCUTERI, A. et al. Associations of large artery structure and function with adiposity: effects of age, gender, and hypertension. The SardiNIA Study. **Atherosclerosis**, v. 221, n. 1, p. 189-197, 2012.
- SIMON, M. I. S. dos S.; et al. Avaliação nutricional dos profissionais do serviço de nutrição e dietética de um hospital terciário de Porto Alegre. **Cad. Saúde Coletiva**, v. 22, n. 1, p. 69-74, 2014.
- SIRIWARDHANA, N.; et al. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 24, n. 4, p. 613-623, 2013.
- SKRZYPIEC-SPRING, Monika et al. Isolated heart perfusion according to Langendorff—still viable in the new millennium. **Journal of pharmacological and toxicological methods**, v. 55, n. 2, p. 113-126, 2007.
- Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Sobre Aspectos Específicos de Diabetes (Tipo 2) Relacionados à Cardiologia. **Arq Bras Cardiol.**, v 102, n. 5, (supl. 1), 2014
- SOFI, F.; et al. Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. **The American journal of clinical nutrition**, v. 92, n. 5, p. 1189-1196, 2010.
- STAHL, W.; SIES, H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1740, n. 2, p. 101-107, 2005.
- STANLEY, W. C.; RECCHIA, F. A.; LOPASCHUK, G. D. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart. **Physiological reviews**, v. 85, n. 3, p. 1093-1129, 2005.
- SUN, J.; BUYS, N. J.; HILLS, A. P. Dietary Pattern and Its Association with the Prevalence of Obesity, Hypertension and Other Cardiovascular Risk Factors among Chinese Older Adults. **International journal of environmental research and public health**, v. 11, n. 4, p. 3956-3971, 2014.
- SVERDLOV, A. L. et al. High fat, high sucrose diet causes cardiac mitochondrial dysfunction due in part to oxidative post-translational modification of mitochondrial complex II. **Journal of molecular and cellular cardiology**, 2014.
- TAPIERO, H.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 58, n. 2, p. 100-110, 2004.
- TEIXEIRA, A. D.; DIAZ, M. D. M. Obesidade e o sucesso no mercado de trabalho utilizando a POF 2008-2009. **Rev Gest Polít Pub.** v. 1, n. 2, p. 188-209, 2011
- TEIXEIRA, T. N.; et al. Caryocar brasiliense pulp increases serum HDL and reduces hepatic lipid accumulation in rats fed a high fat diet. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 7, n. 15, p. 963-969, 2013.

- TEMPLE, M. D.; PERRONE, G. G.; DAWES, I. W. Complex cellular responses to reactive oxygen species. **Trends in cell biology**, v. 15, n. 6, p. 319-326, 2005.
- TRÉGUIER, M. et al. Diet-induced dyslipidemia impairs reverse cholesterol transport in hamsters. **European journal of clinical investigation**, v. 41, n. 9, p. 921-928, 2011.
- TREVITHICK-SUTTON, C. C. et al. The retinal carotenoids zeaxanthin and lutein scavenge superoxide and hydroxyl radicals: a chemiluminescence and ESR study. **Mol Vis**, v. 12, p. 1127-1135, 2006.
- TZENG, T. et al. *Cassia tora* (Leguminosae) seed extract alleviates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 194-201, 2013.
- UZUN, H. et al. Changes in leptin, plasminogen activator factor and oxidative stress in morbidly obese patients following open and laparoscopic Swedish adjustable gastric banding. **Obesity surgery**, v. 14, n. 5, p. 659-665, 2004.
- VELLOSO, L.A. O controle hipotalâmico da fome e da termogênese: implicações no desenvolvimento da obesidade. **Arq. bras. endocrinol. metab**, v. 50, n. 2, p. 165-176, 2006.
- VILELA, A. A. F.; et al. Dietary patterns associated with anthropometric indicators of abdominal fat in adults. **Cadernos de saúde pública**, v. 30, n. 3, p. 502-510, 2014.
- VINCENT, H. K.; INNES, K. E.; VINCENT, K. R. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 9, n. 6, p. 813-839, 2007.
- WANG, M. et al. Lutein supplementation reduces plasma lipid peroxidation and C-reactive protein in healthy nonsmokers. **Atherosclerosis**, v. 227, n. 2, p. 380-385, 2013.
- WEI, Y.; et al. Saturated fatty acids induce endoplasmic reticulum stress and apoptosis independently of ceramide in liver cells. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 291, n. 2, p. E275-E281, 2006.
- WHO. World Health Organization. 2008–2013 Action Plan for the Global Strategy for the Prevention and Control of Noncommunicable Diseases. 2008.
- WILLETT, W. C. Dietary fat plays a major role in obesity: no. **Obesity reviews**, v. 3, n. 2, p. 59-68, 2002.
- WILSON, C. et al. Western diet, but not high fat diet, causes derangements of fatty acid metabolism and contractile dysfunction in the heart of Wistar rats. **Biochem. J**, v. 406, p. 457-467, 2007.
- WISSE, B. E.; KIM, F.; SCHWARTZ, M. W. An integrative view of obesity. **Science**, v. 318, n. 5852, p. 928-929, 2007.
- WOODS, S. C. et al. A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 4, p. 1081-1087, 2003.

WOODS, S. C. et al. Consumption of a high-fat diet alters the homeostatic regulation of energy balance. **Physiology & behavior**, v. 83, n. 4, p. 573-578, 2004.

YAMAUCHI, T. et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. **Nature medicine**, v. 8, n. 11, p. 1288-1295, 2002.

YANG, S. et al. Mitochondrial adaptations to obesity-related oxidant stress. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 378, n. 2, p. 259-268, 2000.

YUZEFOVYCH, L.; WILSON, G.; RACHEK, L. Different effects of oleate vs. palmitate on mitochondrial function, apoptosis, and insulin signaling in L6 skeletal muscle cells: role of oxidative stress. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, v. 299, p. 1069–1105, 2010.

ZÁMBÓ V. et al. Lipotoxicity in the liver. **World J Hepatol.** v. 5, p. 550-557, 2013.